



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> : <b>C07H 5/02, 15/04, G01N 33/60, A61K 51/04</b>	<b>A1</b>	(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 96/34872</b> (43) Date de publication internationale: 7 novembre 1996 (07.11.96)
(21) Numéro de la demande internationale: <b>PCT/FR96/00655</b> (22) Date de dépôt international: <b>30 avril 1996 (30.04.96)</b> (30) Données relatives à la priorité: 95/05214                      2 mai 1995 (02.05.95)                      FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): <b>CIS BIO INTERNATIONAL [FR/FR]; 306, route nationale, F-91400 Saclay (FR).</b> (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): <b>BIGNAN, Gilles [FR/FR]; Le Saphir A9, Avenue du Dr.-Barlatier, F-26100 Romans-sur-Isère (FR). GUEZZI, Catherine [FR/FR]; 7, rue Voltaire, F-38000 Grenoble (FR). HENRY, Christel [FR/FR]; Bâtiment D1, Le Hameau, F-38560 Jarrie (FR). KOUMANOV, Françoise [FR/FR]; 10, rue de Turenne, F-38000 Grenoble (FR). MORIN, Christophe [FR/FR]; 8, impasse de Belledonne, F-38240 Meylan (FR). OGIER, Lionel [FR/FR]; 5, rue Jean-Paul-Sartre, F-38230 Eybens (FR). MAUCLAIRE, Laurent [FR/FR]; 3, rue de l'Amiral-Mouchez, F-75013 Paris (FR).</b> (74) Mandataire: <b>BREVATOME; 25, rue de Ponthieu, F-75008 Paris (FR).</b>		(81) Etats désignés: <b>JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</b> Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.          Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i>
(54) Title: <b>IODINE DERIVATIVES OF MONOSACCHARIDES USEFUL AS RADIOPHARMACEUTICAL PRODUCTS</b>		
(54) Titre: <b>DERIVES IODES DE MONOSACCHARIDES UTILISABLES COMME PRODUITS RADIOPHARMACEUTIQUES</b>		
(57) Abstract		
Iodine derivatives of monosaccharides of formula (I), useful as a radiopharmaceutical product for determining the importance of glucose membrane transport are described, wherein at least one of R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> and R <sup>3</sup> bears a CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> I group or at least one of R <sup>4</sup> and R <sup>6</sup> is I or an OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> I group.		(I)
(57) Abrégé		
L'invention concerne des dérivés iodés de monosaccharides utilisables comme produits radiopharmaceutiques pour déterminer l'importance du transport membranaire du glucose. Ces dérivés répondent à la formule (I) dans laquelle l'un au moins des R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> et R <sup>3</sup> , porte un groupe CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> I ou l'un au moins des R <sup>4</sup> et R <sup>6</sup> représente (I) ou le groupe OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> I.		

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Arménie	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
AT	Autriche	GE	Géorgie	MX	Mexique
AU	Australie	GN	Guinée	NE	Niger
BB	Barbade	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	HU	Hongrie	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BG	Bulgarie	IT	Italie	PL	Pologne
BJ	Bénin	JP	Japon	PT	Portugal
BR	Brésil	KE	Kenya	RO	Roumanie
BY	Bélarus	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CA	Canada	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CF	République centrafricaine	KR	République de Corée	SE	Suède
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SG	Singapour
CH	Suisse	LI	Liechtenstein	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LR	Libéria	SN	Sénégal
CN	Chine	LT	Lituanie	SZ	Swaziland
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	LV	Lettonie	TG	Togo
DE	Allemagne	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DK	Danemark	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
EE	Estonie	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	UG	Ouganda
FI	Finlande	MN	Mongolie	US	Etats-Unis d'Amérique
FR	France	MR	Mauritanie	UZ	Ouzbékistan
GA	Gabon			VN	Viet Nam

DERIVES IODES DE MONOSACCHARIDES UTILISABLES COMME  
PRODUITS RADIOPHARMACEUTIQUES

DESCRIPTION

La présente invention a pour objet de  
5 nouveaux dérivés iodés de monosaccharides utilisables  
comme produits radiopharmaceutiques, en particulier  
pour déterminer l'importance du transport membranaire  
d'un monosaccharide tel que le glucose.

Le glucose est un substrat énergétique pour  
10 la totalité des tissus de l'organisme et l'appréciation  
de sa captation cellulaire revêt une grande importance  
en médecine.

Ainsi, dans les tissus musculaires, les  
acides gras sont le substrat énergétique le plus  
15 utilisé dans les conditions d'oxygénation normales. Par  
contre, en cas d'ischémie, le glucose devient le  
substrat prédominant. Un territoire myocardique  
akinétique ayant une captation de glucose augmentée par  
rapport à celle des territoires avoisinants peut être  
20 qualifié de viable et ischémique. En principe la  
revascularisation d'un tel territoire devrait entraîner  
sa récupération fonctionnelle.

Dans le cerveau, la captation cellulaire du  
glucose est perturbée dans différentes conditions  
25 pathologiques : maladie d'Alzheimer, maladie de  
Parkinson, démences etc.

Dans les cellules tumorales, la captation  
du glucose est augmentée par rapport à celle du tissu  
sain environnant.

30 Dans le diabète, l'appréciation de la  
captation cellulaire du glucose devrait permettre de  
mieux adapter les thérapeutiques.

Aussi, des produits radiopharmaceutiques  
permettant d'apprécier la captation cellulaire du  
35 glucose présentent un grand intérêt pour le diagnostic

de toutes les pathologies liées à des perturbations du métabolisme glucidique, ces pathologies étant caractérisées par une variation du nombre de transporteurs du glucose et/ou une variation de sa captation.

De telles molécules peuvent être utilisées dans un champ d'application extrêmement vaste puisqu'il concerne la cancérologie, les maladies dégénératives cérébrales, l'épilepsie, le diabète, l'ischémie myocardique, les cardiomyopathies non ischémiques et enfin les myopathies.

La seule molécule utilisée actuellement pour apprécier chez l'homme la captation cellulaire du glucose est le [ $^{18}\text{F}$ ] fluorodésoxyglucose (FDG), mais elle présente certains inconvénients. En effet, elle ne peut être utilisée qu'à proximité du cyclotron produisant le  $^{18}\text{F}$  qui est un radioélément de courte période (110 min.). De plus,  $^{18}\text{F}$  étant un émetteur de positons, la caméra nécessaire à sa détection est d'un coût très élevée ; de ce fait il existe très peu de centres possédant cet appareillage et le nombre de patients susceptibles d'être explorés est donc très limité.

Aussi, de nombreuses recherches ont été entreprises pour utiliser dans ce but d'autres molécules ou d'autres techniques d'appréciation de la captation cellulaire du glucose.

Le document US-A-5 342 926 décrit l'utilisation d'analogues de cytochalasine B marqués par un radionucléide, pour apprécier le transport du glucose au travers des membranes cellulaires. Le document WO-A-94/14477 décrit l'utilisation d'analogues de la phlorétine, qui sont des composés du type polyphénol marqués par un halogène, pour détecter et

repérer les tissus ayant un métabolisme du glucose perturbé.

Pour l'appréciation de la captation cellulaire du glucose, l'emploi de dérivés du glucose marqués à l'iode radioactif serait particulièrement  
5 intéressant, car l'iode est un émetteur  $\gamma$  facilement disponible et compatible avec une faible modification des propriétés biologiques.

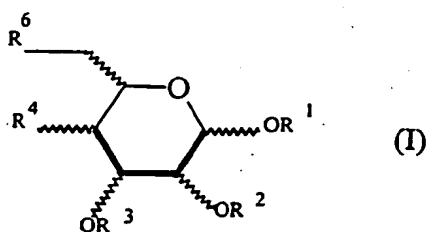
Toutefois, les tentatives effectuées jusqu'à présent pour l'obtention de tels dérivés du  
10 glucose susceptibles d'être utilisés comme produits radiopharmaceutiques ont échoué.

Ainsi, comme il est décrit dans J. Neuro Surg., vol. 44, juin 1976, p. 668-676, Wassenaar et al  
15 ont préparé et testé le méthyl-6-I-désoxy-D-glucoside et le 6-I-désoxy-D-glucose comme marqueur des tumeurs cérébrales chez la souris, et ont constaté que le contraste obtenu entre le cerveau et la tumeur n'était pas suffisant pour une application clinique.

Plus récemment, Lutz et al dans European J. Nucl. Med., 21(B), 1994, p. 785 n° 243, ont décrit la  
20 préparation d'un dérivé de glucose constitué par le 2-iodo-2-désoxy-1,5-anhydro-D-glucitol, mais les biodistributions de ce dérivé ne sont pas très élevées.

La présente invention a précisément pour  
25 objet d'autres dérivés de monosaccharides, marqués à l'iode, qui permettent justement d'apprécier l'importance du transport membranaire d'un monosaccharide tel que le glucose.

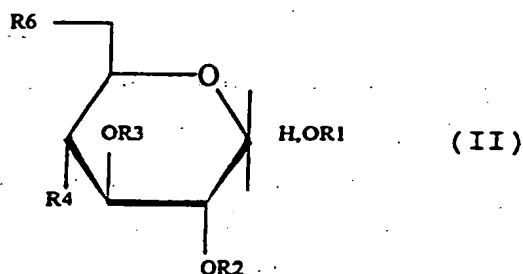
Selon l'invention, le dérivé iodé de  
30 monosaccharide répond à la formule :



dans laquelle

- 5           - R<sup>1</sup> représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle, un groupe de formule -C(O)R<sup>7</sup> avec R<sup>7</sup> étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule -(CH)<sub>2</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>I avec m égal à 0 ou à 1 ;
- 10           - R<sup>2</sup> et R<sup>3</sup> qui peuvent être identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un groupe de formule -C(O)R<sup>7</sup> ou C(O)OR<sup>7</sup> avec R<sup>7</sup> étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>I avec m égal à 0 ou à 1 ;
- 15           - R<sup>4</sup> et R<sup>6</sup> qui peuvent être identiques ou différents, représentent I, OH, un groupe alkyle, un groupe de formule OR<sup>7</sup>, -OC(O)R<sup>7</sup>, ou -OC(O)OR<sup>7</sup> avec R<sup>7</sup> étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>I avec n égal à 1 ou à 2 ;
- 20           l'un au moins des R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> et R<sup>6</sup> représentant I ou un groupe comportant I.
- De préférence, l'un seulement des R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> et R<sup>6</sup> représente I ou un groupe comportant I.
- Avantageusement, le monosaccharide est le glucose, et le dérivé répond à la formule :

5



dans laquelle  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  et  $R^6$  ont les significations données ci-dessus.

Dans les formules I et II données ci-dessus, les groupes alkyle utilisés pour  $R^1$ ,  $R^6$  et  $R^7$  peuvent être linéaires ou ramifiés, et ont de préférence 1 à 18 atomes de carbone.

A titre d'exemples de tels groupes, on peut citer les groupes méthyle, tertibutyle.

Dans le dérivé de monosaccharide de formule (I), l'iode peut occuper différentes positions, et il est de préférence introduit sous la forme du groupe  $(CH_2)_2 (OCH_2CH_2)_n I$ , avec  $n$  égal à 0 ou à 1.

En effet, l'introduction de l'iode sous la forme du groupe  $\beta$ -iodoéthoxy est intéressante en raison de la stabilité élevée de ce groupe et de son faible encombrement stérique.

Les dérivés iodés de monosaccharides conformes à l'invention peuvent être préparés par des procédés classiques, choisis en fonction de la position occupée par l'iode sur la molécule de monosaccharide.

De préférence, selon l'invention on utilise la méthode Helferich en partant du dérivé pentacétylé du monosaccharide, par exemple du glucose.

Lorsque l'iode est introduit en position 4 sous la forme I, on peut partir d'un dérivé de galactose dans lequel l'hydroxyle en position 1 est protégé par un groupe tert-butyle, et les hydroxyles en positions 2, 3 et 6 sont protégés par le groupe silyle, benzoyle ou acétyle, introduire un groupe triflyle

CF<sub>3</sub>-SO<sub>2</sub> sur l'hydroxyle en position 4 du dérivé de galactose, puis réaliser une substitution nucléophile avec inversion de configuration par action de l'iodure de sodium.

5                    Lorsque l'iode est introduit en position 6 sous la forme I, on peut utiliser la technique décrite par Wassenaar et coll. dans J. Neurosurg, vol. 44, juin 1976, p. 668-676.

10                   L'invention a également pour objet un produit radiopharmaceutique comprenant un dérivé iodé de monosaccharide répondant à l'une des formules I et II données ci-dessus, dans lequel l'iode est sous la forme d'iode radioactif en particulier de <sup>123</sup>I, <sup>125</sup>I ou <sup>131</sup>I, qui ont des périodes respectives de 13 h, 60  
15 jours et 8,05 jours et des énergies adaptées à une utilisation en médecine nucléaire pour le diagnostic ou la thérapie.

                  De préférence, on utilise <sup>123</sup>I qui est un émetteur gamma d'une période de treize heures avec une  
20 principale émission γ de 159,5 keV.

                  L'iode radioactif peut être introduit dans le dérivé iodé par des méthodes classiques, par exemple par échange isotopique, par substitution nucléophile, halogénéation électrophile ou iodo métallation.

25                   De préférence, on utilise la technique d'échange isotopique, qui consiste à porter une solution d'iodure de sodium radioactif dans l'acétone contenant le dérivé iodé de formule I à une température de 100 à 130°C pendant environ 30 minutes, puis à  
30 refroidir la solution et à la purifier par passage sur une résine anionique afin d'éliminer les iodures et les espèces chargées négativement telles que I<sup>-</sup>, I<sub>3</sub><sup>-</sup>, IO<sup>-</sup> et IO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Après évaporation sous vide à la température ambiante, on peut récupérer le dérivé iodé radioactif  
35 pur dans du sérum physiologique en vue de son



utilisation comme produit radiopharmaceutique, notamment pour apprécier la captation cellulaire du glucose in vivo.

5 Dans ce cas, on administre le produit radiopharmaceutique à un patient en quantité suffisante pour sa détection ultérieure, puis après avoir attendu le temps nécessaire pour que le dérivé du glucose puisse atteindre les tissus à étudier, on observe la rétention de celui-ci au moyen d'une caméra gamma.

10 Le produit radiopharmaceutique peut être sous forme de solution aqueuse, notamment de solution dans du sérum physiologique comprenant éventuellement d'autres additifs.

15 Les concentrations en produit et les doses administrées peuvent varier en fonction du mode d'administration, de l'âge, du poids et de l'état du patient. L'administration peut être effectuée par voie parentérale, par exemple par injection intraveineuse.

20 La dose administrée se situe généralement dans la gamme allant de 70 à 100  $\mu\text{Ci}$  par kg de poids corporel. L'examen au moyen de la caméra gamma est généralement effectué dès l'administration du produit radiopharmaceutique.

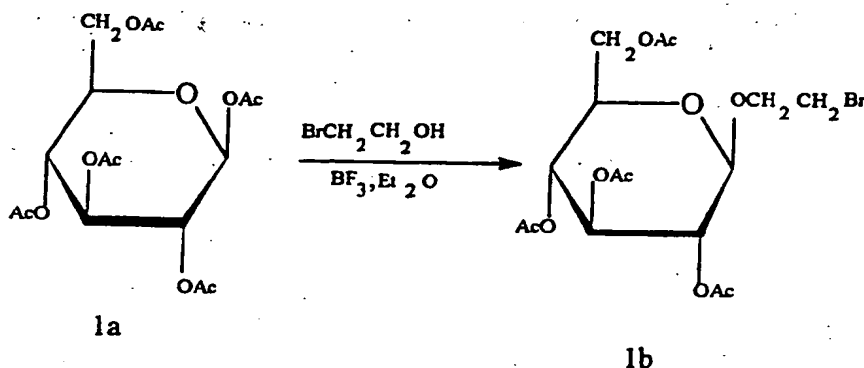
25 D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture des exemples suivants, donnés bien entendu à titre illustratif et non limitatif, en référence aux dessins annexés.

30 Les figures 1 et 2 sont des diagrammes illustrant les résultats d'étude in vivo chez le chien de deux dérivés de glucose marqués à l'iode 123. Sur ces figures, les courbes 1, 2, 3 et 4 illustrent l'évolution de la radioactivité (en coups/min.mCi.pixel) en fonction du temps (en min.)

dans le coeur, le foie, le bruit de fond et les poumons.

Exemple 1 : Préparation du 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranoside de 2'iodoéthyle (composé 1)

5 a) Préparation du 2, 3, 4,6-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranoside de 2'bromoéthyle.



10 Au 1,2,3,4,6-penta-O-acétyl- $\beta$ -D-glucose (0,39g-1 mmol), on ajoute successivement du dichlorométhane anhydre (2 ml), du 2-bromo-éthanol (0,15 g - 1,2 mmol), puis sous agitation, sous argon et à -20°C, de l'éthérate de trifluorure de bore en solution dans du dichlorométhane (1 ml) (0,36 g - 15 2,5 mmol), goutte à goutte pendant 15 min. Après 7 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est hydrolysé avec de la glace. On extrait la phase aqueuse avec du dichlorométhane (3 x 5 ml), on 20 rassemble les phases organiques pour les laver avec une solution de NaHCO<sub>3</sub> à 5 %, puis les neutraliser à l'eau et les sécher. Après évaporation sous pression réduite, des cristaux de 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranoside de 2'-bromoéthyle sont obtenus. La 25 recristallisation à froid dans de l'acétate d'éthyle et

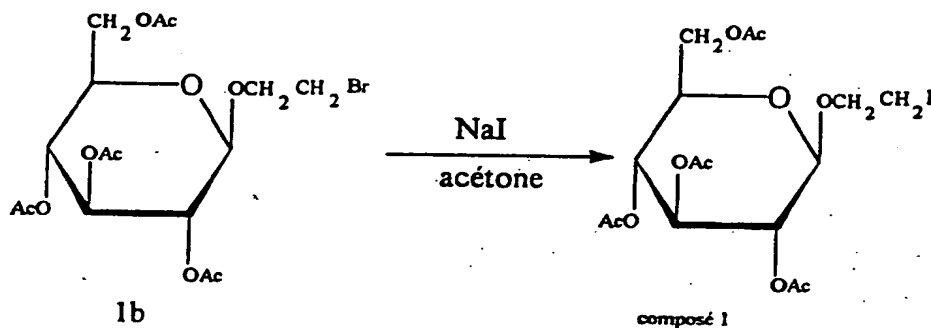
du pentane donne le 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranoside de 2'-bromoéthyle pur (363 mg, 80 %).

F = 115°C.

RMN  $^1\text{H}$ , 200 MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5,25-4,8 (m, 3H, H-4, H-3 et H-2) ; 4,5 (d, J = 7,8, H-1) ; 4,2-3,9 (m, 3H, H-6, H-6' et  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ ) ; 3,8-3,55 (m, 2H, H-5 et  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ ) ; 3,2-3,05 (m, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ ) ; 2,0-1,9 (m, 12H,  $-\text{CHCH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$ , 50MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : 170,5-170,1-169,3 (CO) ; 100,8 (C-1) ; 72,5-71,9-70,9-68,1 (C-2, C-5, C-3 et C-4) ; 69,7 (C-1') ; 61,7 (C-6) ; 29,8 (C-2') ; 20,7-20,6-20,4 ( $\text{COCH}_3$ ).

b) Préparation du composé 1



Au 2,3,4,6-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranoside de 2'-bromoéthyle (0,91 g - 2 mmol), 1b obtenu en a), on ajoute de l'acétone (10 ml), de l'iodure de sodium (0,6 g - 4 mmol), puis on chauffe à 60°C sous agitation pendant une heure. Après avoir refroidi le mélange réactionnel dans de la glace, on sépare le sel de NaBr par filtration, on le lave à l'acétone et on récupère le filtrat que l'on évapore sous pression réduite pour donner le composé 1 sous forme de précipité : ce dernier est repris par du dichlorométhane. Après séparation du sel de NaBr par filtration, on évapore le filtrat sous pression réduite

pour donner le 2,3,4,6,-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranoside de 2'iodoéthyle pur (0,5 g, 50 %).

F = 97°C.

$[\alpha]_D^{25} = -12,1^\circ (c=1; \text{CH}_2\text{Cl}_2)$

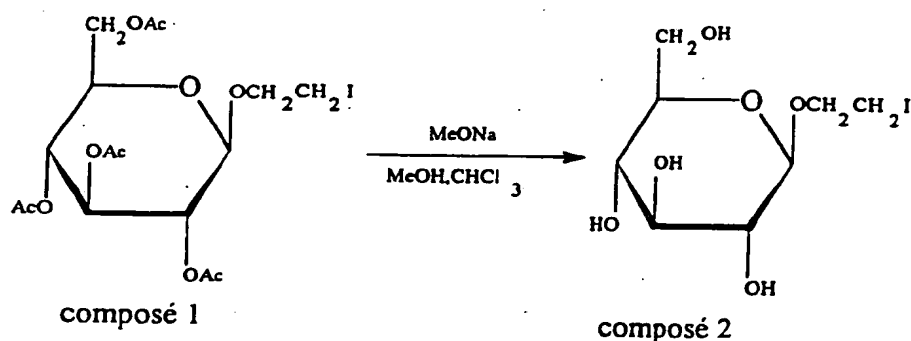
5 I.R. (film) : 1750  $\text{cm}^{-1}$  (CO)

RMN  $^1\text{H}$ , 200 MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5,2-4,8 (m, 3H, H-4, H-3 et H-2) ; 4,5 (d, 1H, J = 7.8, H-1) ; 4,2-3,9 (m, 3H, H-6, H-6' et  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ) ; 3,8-3,55 (m, 2H, H-5 et  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ) ; 3,2-3,0 (m, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ) ; 2,05-1,9 (m, 12H, -

10  $\text{COCH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$ , 50 MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : 170,5-170,1-169,3 ( $-\text{COCH}_3$ ) ; 100,6 (C-1) ; 72,5-71,8-70,9-68,2 (C-5, C-4, C-3 et C-2) ; 69,6 (C-1') ; 61,7 (C-6) ; 20,8-20,7-20,5 5 ( $-\text{COCH}_3$ ) ; 2,0 (C-2').

15 Exemple 2 : Préparation du  $\beta$ -D-glucopyranoside de 2'-iodoéthyle (composé 2)



20 Au 2,3,4,6,-tétra-O-acétyl- $\beta$ -D-glucopyranoside de 2'iodoéthyle (0,25 g - 0,55 mmol) obtenu dans l'exemple 1, on ajoute successivement du chloroforme (2 ml) et du méthanol (2 ml), puis sous agitation et à -20°C, du méthylate de sodium en petites

25 quantités (0,108 g - 2 mmol). Après agitation pendant 2h30, le mélange réactionnel est neutralisé par une solution aqueuse à 5 % d'acide sulfurique. Après filtration et lavage au méthanol, le filtrat est évaporé à sec pour donner l'iodoéthyle glucoside brut.

Le résidu est ensuite purifié à l'aide d'une chromatographie sur gel de silice préalablement lavée au méthanol et séchée en utilisant le méthanol/dichlorométhane (5/96) comme éluant. Après évaporation du solvant sous pression réduite, le  $\beta$ -D(glucopyranoside de 2'iodoéthyle pur est obtenu (132 mg, 72 %).

F = 1190°C

$[\alpha]_D^{25} = -21,2^\circ (c=1; \text{acétone})$

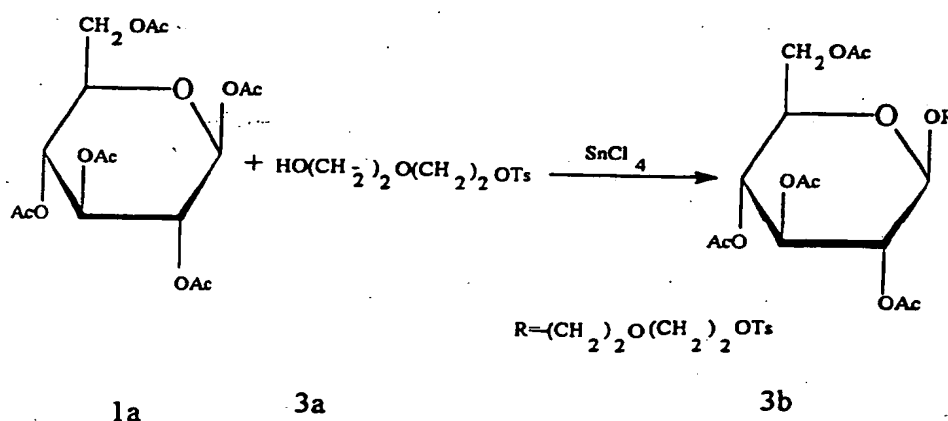
10 RMN  $^1\text{H}$ , 300MHz, ( $\text{D}_2\text{O}$ ) : 4,62, (d, 1H, J = 7,14, H-1) ; 4,3-4,02 (2m, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ) ; 4,0-3,75 (2m, 2H, H-6 et H-6') ; 3,65-3,55 (m, 3H, H-3, H-4 et H-5) ; 3,5 (t, J = 7, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ) ; 3,4 (m, 1H, H-2).

15 RMN  $^{13}\text{C}$ , 75 MHz, ( $\text{D}_2\text{O}$ ) : 104,1 (C-1) ; 77,83 (C-5) ; 77,6 (C-3) ; 71,80 (C-1') ; 69,4 (C-4) ; 62,53 (C-6) ; 2,7 (C-2').

Les attributions  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ont été réalisées au moyen de COSYDQF 2D et COSY  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ .

Exemple 3 : Préparation du 2,3,4,6, tétra-O-acétyl-β-D-glycopyranoside de (2''-iodoéthoxy)-2'-éthyle (composé 3).

a) Préparation du 2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D-glycopyranoside de (2''-iodotosyloxyéthoxy)-2'-éthyle 3b.



10 A une solution de 1,2,3,4,6-penta-O-acétyl-β-D-glucose (1,95 g - 5mmol) dans de l'acétonitrile anhydre (20 ml), l'on ajoute successivement sous argon le 2-(2'-tosyloxy éthoxy)- éthanol (1,3 g - 4,99 mmol), puis sous agitation et à -20°C, du tétrachlorure d'étain (3,26 g - 12,5 mmol) en solution dans du dichlorométhane (1,50 ml) goutte à goutte pendant 20 min. Après agitation 2 heures à température ambiante, on hydrolyse avec une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium à 5 % (20 ml). On 20 extrait la phase aqueuse avec du dichlorométhane (3 x 10 ml), on rassemble les phases organiques pour les laver à l'eau puis les sécher. Après évaporation sous pression réduite, le composé brut est obtenu. Ce dernier est alors purifié par chromatographie liquide 25 moyenne performance CLMP sur gel de silice avec l'éther comme éluant, puis une seconde fois au moyen d'une colonne chromatographique sur gel de silice avec

l'éther pour donner 3b pur sous forme d'huile (0,7 g, 24 %).

$[\alpha]_D^{21} = -12,6^\circ$  ( $c = 0,9$ ;  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )

I.R. (film) :  $1750\text{ cm}^{-1}$  (CO) ;  $1580\text{ cm}^{-1}$

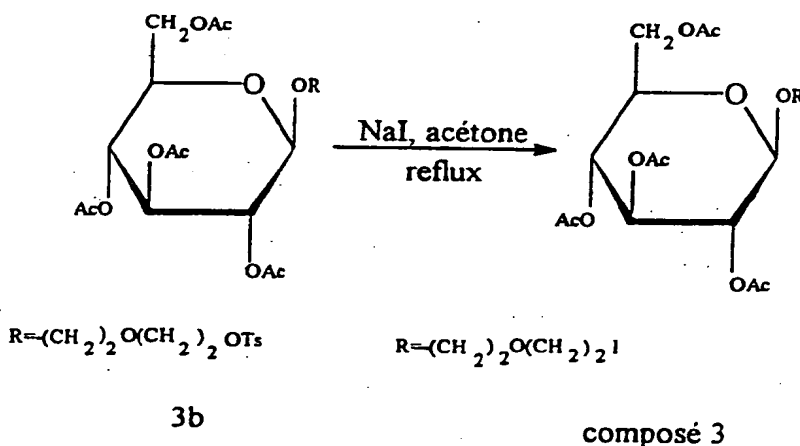
(Ar)

RMN  $^1\text{H}$ , 200MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : 7,6 et 7,2 (système AB, 4H,  $J_{AB}=10$ , H Ar) ; 5,1-5,0 (m, 1H, H-3) ; 4,9-4,8 (m, 1H, H-2) ; 4,5 (d, 1H, H = 7,8, H-1) ; 4,2-3,9 (m, 4H, H-6 et H-6',  $-\text{CH}_2\text{OTs}$ ) ; 3,8-3,7 (m, 1H, H-5) ; 3,7-3,4 (m, 6H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2-$ ) ; 2,3 (s, 3H,  $\text{H}_3\text{C}-\text{Ar}$ ) ; 2,02-1,96, -1,94 (4s, 12H,  $\text{COCH}_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$ , 50MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : 170,4-170,0-169,2 (CO) ; 144,7 (C ipso) ; 132,0 (C para) ; 129,7 (C ortho) ; 127,7 (C méta) ; 100,5 (C-1) ; 72,6-71,5-71,0-70,1 (C-2, C-3, C-4, C-5) ; 69,0-68,8-68,5-68,1 (C-1', C-2', C-3', C-4') ; 61,7 (C-6) ; 21,4-20,5-20,4 ( $\text{CH}_3-\text{Ar}$  et  $\text{CH}_3\text{CO}$ ).

SM (D/CI ;  $\text{NH}_3$ -isobutane) : 608 ( $\text{M} + \text{NH}_4$ )<sup>+</sup> (100) ; 331 ( $590-\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OTs}$ )<sup>+</sup> ; 271 ( $331-\text{AcOH}$ )<sup>+</sup> ; 211 ( $271-\text{AcOH}$ )<sup>+</sup> ; 169 ( $211-\text{CH}_2\text{CO}$ )<sup>+</sup>.

#### b) Préparation du composé 3.



Au dérivé 3b (0,5g-0,85 mmol) , en solution dans dans de l'acétone (30 ml), l'on ajoute de l'iodure

de sodium (0,63 g - 4,2 mmol) puis on chauffe à 60°C sous agitation durant une nuit. Après refroidissement du mélange réactionnel à température ambiante, on sépare les sels obtenus par filtration, les lave à l'acétone et récupère le filtrat que l'on évapore sous pression réduite pour donner un précipité du composé 3. Ce dernier est alors purifié par CLMP sur gel de silice avec le méthanol/dichlorométhane (5/95) comme éluant puis purifié une deuxième fois au moyen d'une chromatographie sur colonne de gel de silice avec le méthanol/dichlorométhane (2/98) comme éluant pour donner le composé 3 pur (0,436 g, 94 %).

F = 53°C

$[\alpha]_D^{25} = -17,9^\circ (c=1; CH_2Cl_2)$

I.R. (film) : 1750  $cm^{-1}$  (CO)

RMH  $^1H$ , 200MHz, (CDCl<sub>3</sub>) : 5,2-5,1 (m, 1H, H-4) ; 5,1-5,0 (m, 1H, H-3) ; 5,0-4,9 (m, 1H, H-2) ; 4,6 (d, 1H, J = 7,8, H-1) ; 4,3-4,0 (M, 2H, H-6 et H-6') ; 4,0-3,8 (M, 1H, H-5) ; 3,8-3,55 (M, 6H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>) ; 3,2 (t, J=6,7, 2H, -CH<sub>2</sub>I) ; 2,02-2,0-1,95-1,90 (4 s, 12 H, -COCH<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}C$ , 50MHz, (CDCl<sub>3</sub>) : 170,5-170,0-169,3-169,2 (CO) ; 100,6 (C-1) ; 72,6-71,7-71,1-68,2 (C-2, C-3, C-4, C-5) ; 71,8-68,8-68,25 (C-1', C-2', C-3') ; 61,7 (C-6) ; 20,6-20,4 (H<sub>3</sub>CCO-) ; 2,8 (-CH<sub>2</sub>I).

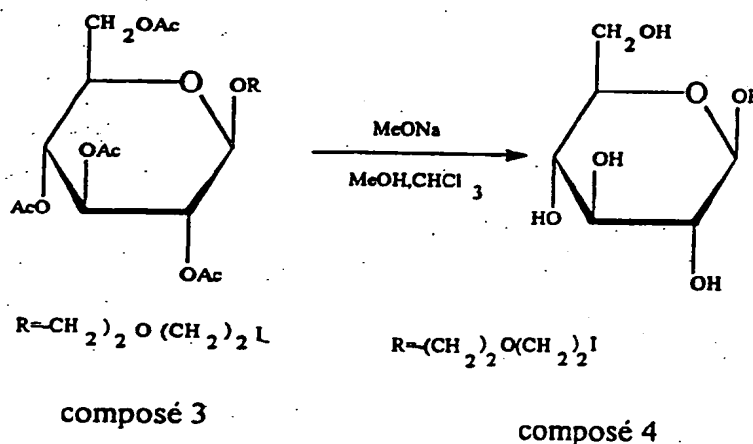
Analyse élémentaire :

calculée C (39,57), H, 4,98 ; I (23,22), O (32,21)

Obtenue C (39,86), H (5,07) ; I (22,95), O (32,00)



Exemple 4 : Préparation du  $\beta$ -D-glucopyranoside de (2"-iodoéthoxy)-2'-éthyle (composé 4)



5

Au composé 3 de l'exemple 3 (105 mg - 0,20 mmol), on ajoute successivement du chloroforme (3 ml) et du méthanol (3 ml), puis sous agitation et à -20°C, du méthylate de sodium (42 mg - 0,78 mmol). Après agitation 45 min à -20°C, puis 5 heures à température ambiante, le mélange réactionnel est neutralisé par une solution aqueuse à 5 % d'acide sulfurique. Après filtration et lavage au méthanol du précipité, le filtrat est évaporé à sec pour donner le composé 4 brut. Le résidu est ensuite purifié à l'aide d'une chromatographie sur gel de silice, préalablement lavé au méthanol et séché, en utilisant le méthanol/dichlorométhane (25/75) comme éluant. Après évaporation sous pression réduite, le composé 4 pur est obtenu (68 mg, 90 %).

F = 94°C

$[\alpha]_D^{25} = -14,3^\circ \text{C} (c=1; \text{MeOH})$

RMN  $^1\text{H}$ , 200MHz, ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) : 4,25 (d, 1H, J = 7,1, H-1) ; 4,0-3,5 (M, 6H, H-6, H-6', H-5, H-4, H-3, H-2) ; 3,4-3,0 (M, 8H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$ , 50MHz, ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) : 104,3 (C-1) ;  
77,8-74,9-71,5 (C-2, C-3, C-4, C-5) ; 72,9-71,0-69,6  
( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$ ) ; 62,6 (C-6) ; 3,1 ( $-\text{CH}_2\text{I}$ ).

Analyse élémentaire :

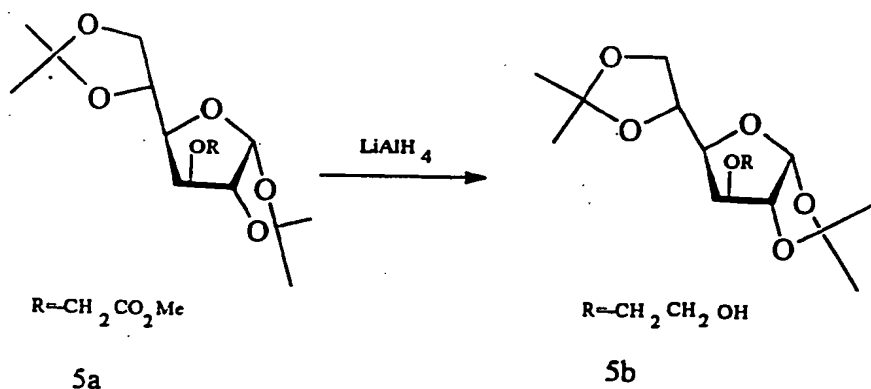
5 Calculée C(31,76), H(5,06), I(33,56)

Obtenue C(32,54), H(4,90), I(32,39)

Exemple 5 : Préparation du 3-O-(2'-iodoéthyl)- $\alpha$  et  $\beta$ -D-glucopyranoses (composé 5)

a) Préparation du 1,2,5,6-diisopropylidène

10 3-O-(2'-hydroxyéthyl)- $\alpha$ -D-glucofuranose



A une solution d'éther anhydre, contenant  
15 du  $\text{LiAlH}_4$  (1,44 g - 38,0 mmol), est ajouté au goutte à  
goutte, sous argon, sous agitation et à  $4^\circ\text{C}$ , le  
1,2:5,6-di-O-isopropylidène-3-O-(acétatge de méthyle)- $\alpha$ -  
-D-glucofuranose (5,0 g - 15,06 mmol) en 15 min. Après  
avoir agité 30 min à  $4^\circ\text{C}$  et 60 min à température  
20 ambiante, l'excès d'hydrure est éliminé avec de  
l'acétate d'éthyle, puis de l'eau (l'addition d'eau  
doit être stoppée avant la formation de la phase  
aqueuse). La filtration du résidu obtenu sur célite et  
l'évaporation sous pression réduite du solvant, donne  
25 5b pur (4,0 g - 87 %) sous forme d'huile incolore.

$[\alpha]_D^{25} = -42,5^\circ (c=1,12; \text{CH}_2\text{Cl}_2)$

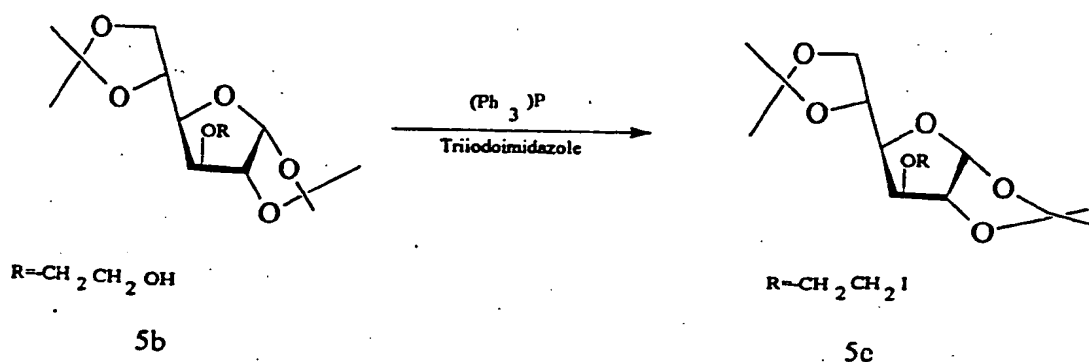
I.R. (film) :  $3500\text{ cm}^{-1}$  (OH)

RMN  $^1\text{H}$ , 200MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : 5,95 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 3.7, H-1) ; 4,5 (d, 1H,  $J_{1,2}$  = 3.7, H-2) ; 4,35-4,2 (m, 1H, H5) ; 4,15-3,45 (2 M, 9H, H-3, H-4, H-6 et H-6',  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ) ; 1,35-1,30-1,20-1,15 (4 s, 12H,  $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ).

Le proton échangeable n'est pas visible sur le spectre.

RMN  $^{13}\text{C}$ , 50MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : 111,9-109,3 ( $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ) ; 105,6 (C-1) ; 82,6-82,2-81,2 (C-2, C-3, C-4) ; 81,2 (C4) ; 72,8 (C-5) ; 71,5 (C-1') ; 67,7 (C-6) ; 60,9 (C-2') ; 26,8-26,7-26,1-25,0 ( $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ).

b) Préparation du 1,2:5,6-diisopropylidène-3-O-2'-iodoéthyl)- $\alpha$ -D-glucofuranose 5c



Au composé 5b obtenu en a) (900 mg - 2,96 mmol) en solution dans du toluène anhydre (80ml), on ajoute successivement sous argon et sous agitation, de la triphénylphosphine (1,18 g - 4,5 mmol) et du triiodoimidazole (1,0 g - 2,24 mmol). Après 3 heures d'agitation du mélange réactionnel à 120°C, on ajoute de la triphénylphosphine (0,78 g - 3 mmol) et du triiodoimidazole (0,66 g - 1,5 mmol). Après 90 minutes d'agitation à 120°C, le mélange réactionnel est refroidi et hydrolysé avec une solution aqueuse d'hydrogénosulfate de sodium saturée (80 ml); après 5 minutes d'agitation, de l'iode est ajouté jusqu'à obtention d'une coloration brune de la phase organique. Après 10 minutes d'agitation, l'excès d'iode est

éliminé en ajoutant une solution aqueuse de thiosulfate de sodium saturée. La phase organique est ensuite diluée dans du toluène, extraite à l'eau (3 x 40 ml) puis séchée. Après évaporation sous pression réduite du toluène, le composé 5c brut est obtenu. Il est alors purifié au moyen d'une chromatographie sur colonne de gel de silice avec le méthanol/dichlorométhane (2/98) comme éluant pour donner le composé 5c pur (1,08 g, 88 %), sous forme d'huile dans un premier temps, puis sous forme cristalline après 3 mois.

F = 31-33°C

$[\alpha]_D^{25} = -14,4^\circ (c=1,125; CH_2Cl_2)$

RMN  $^1H$ , 200MHz, (CDCl<sub>3</sub>) : 5,85 (d, 1H,  $J_{1,2} = 4,5$ , H-1) ; 4,55 (d, 1H,  $J_{1,2} = 4,5$ , H-2) ; 4,4-4,2 (M, 1H, H-5) ; 4,15-3,75 (M, 6H, H-3, H-4, H-5, H-6 et H-6', -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I) ; 3,3-1 (m, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I) ; 1,5-1,0 (4 s, 12H, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

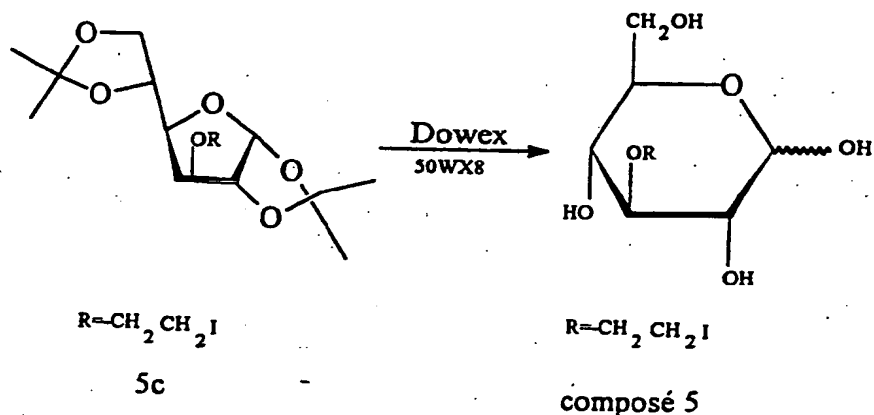
RMN  $^{13}C$ , 50MHz, (CDCl<sub>3</sub>) : 111,9-109,0 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ; 105,2 (C-1) ; 82,7-82,3-81,1 (C-2, C-3, C-4) ; 72,3 (C-5) ; 71,2 (C-1') ; 67,3 (C-6) ; 26,8-26,2-25,4 (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) ; 2,6 (C2').

Analyse élémentaire :

Calculée C (40,59), H (5,60), I (30,63); O (23,18)

Obtenue C(40,75), H (5,48), I (30,57), O(23,20)

## c) Préparation du composé 5.



5 Au composé 5c obtenu en b) (600 mg - 1,45 mmol) en solution dans un mélange THF-eau (1/1-10ml), on ajoute de la résine Dowex 50 W x 8,50-100 mesh (11,6 g - 67,6 méq) et l'on agite à 60°C durant 8 heures. Après avoir filtré la résine et l'avoir lavée

10 abondamment à l'eau et au tétrahydrofuranne (THF), le THF est éliminé sous pression réduite, puis la phase aqueuse est neutralisée au moyen d'une solution de soude (0,05M), extraite au dichlorométhane (3 x 20 ml). L'évaporation de la phase aqueuse sous pression réduite

15 donne le composé 5 brut. Il est ensuite purifié au moyen d'une chromatographie sur colonne de gel de silice, préalablement lavée au méthanol et séchée, avec le méthanol/dichlorométhane (25/75) comme éluant pour donner le mélange d'anomères 5 purs qui cristallise

20 (420 mg, 87 %).

F = 111-113°C

$[\alpha]_D^{25} = +27,2^\circ$  (après 60 minutes) et  $+32,6^\circ$  (après 4 heures) ( $c=0,5.H_2O$ )

RMN  $^1H$ , 200MHz, ( $D_2O$ ) : 5,25 (s large, 1H, H-1 $\alpha$ ) ; 4,70 (d,  $J_{1,2} = 7.4$ , 1H, H-1 $\beta$ ) ; 4,1 (t,  $J = 6,3$ , -OCH $_2$ CH $_2$ I) ; 4,0-3,25 (M, 20H, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6 et H-6', -OCH $_2$ CH $_2$ I).

25

RMN  $^{13}\text{C}$ , 50MHz, ( $\text{D}_2\text{O}$ ) : 95,8 (C-1 $\beta$ ) ; 92,0 (C-1 $\alpha$ ) ; 84,5-81, 9-75, 75-73, 65-73, 4-73, 3-71, 4-71, 05-69,1 (C-2, C-3, C-4, C-5 ( $\alpha$  et  $\beta$ ), C-1') ; 60,6 et 60,4 (C-6) ; 3,62 (C-2').

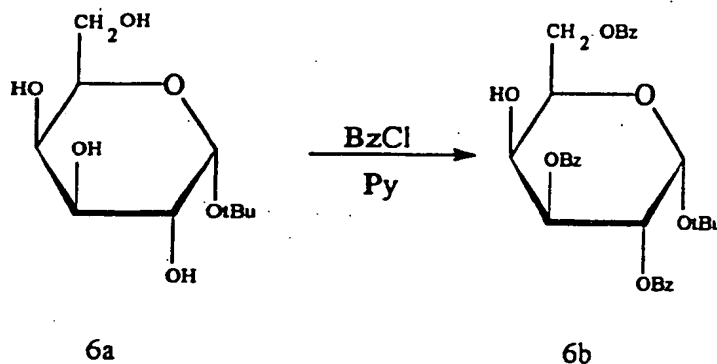
5 Analyse élémentaire :

Calculée C (28,76), H (4,53), I (37,98), O (28,73)

Obtenue C (29,10), H (4,60), I (38,52), O (28,94).

10 Exemple 6 : Préparation du 4-désoxy-4-iodo- $\alpha$  et  $\beta$ -D-glucopyranoses (composé 6)

a) Préparation du 2,3,-6-tri-O-benzoyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside de tert-butyle 6b



15

A 1' $\alpha$ -D-galactopyranoside de tert-butyle 6a (413 mg- 1,75 mmol) en solution dans de la pyridine anhydre (12,8 ml), sous argon, sous agitation et à -20°C, l'on ajoute du chlorure de benzyle (0,67 ml - 5,78 mmol-3,3 équivalents) goutte à goutte en 20 minutes.

Après agitation sous argon, 18 heures à -20°C, 8 heures à 0°C et 22 heures à température ambiante, la pyridine est évaporée sous pression réduite, sans chauffer. Le résidu obtenu est repris dans du dichlorométhane (30 ml). La phase obtenue est lavée successivement avec une solution aqueuse froide

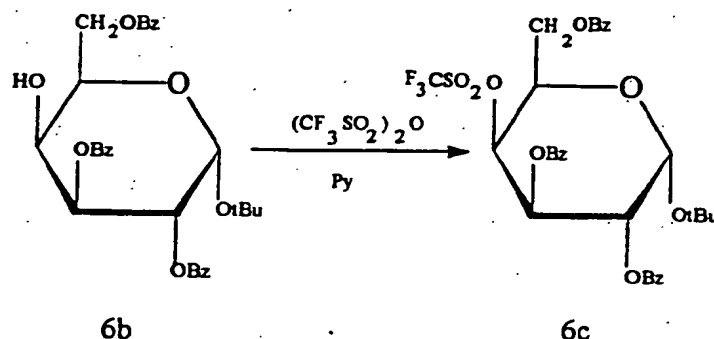
25

d'acide chlorhydrique 3M (15 ml), une solution aqueuse d'hydrogènocarbonate de sodium saturée (15 ml) et de l'eau (15 ml). Après séchage de la phase organique sur sulfate anhydre et évaporation sous pression réduite, le composé 6b brut est obtenu. La purification par chromatographie sur colonne de gel de silice avec l'éluant acétate d'éthyle/hexane (20/80) donne le composé 6b pur (730 mg - 76 %), sous forme de solide amorphe.

RMN  $^1\text{H}$ , 300MHz, ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) : 8,2-8,0 (6H, M, H o benzoyles) ; 7,2-6,8 (9H, M, H m et p benzoyles) ; 6,05-5,97 (dd, 1H,  $J_{3,4}=2,2$ ,  $J_{3,2}=10,7$ , H-3) ; 5,97-5,90 (dd, 1H,  $J_{1,2}=3,1$ ,  $J_{2,3}=10,7$ , H-2) ; 5,66 (d, 1H,  $J = 3,1$ , H-1) ; 4,7-4,55 (m, 2H, H-6 et H-6') ; 4,5-4,4 (M, 1H, H-5) ; 4,2-4,05 (s large, 1H, H-4) ; 2,1 (s large, 1H, -OH) ; 1,05 (s, 9H, -OC( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$ , 75MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : 166,4-166,1-165,8 (-CO) ; 133,2-133,0 (-C ipso benzoyles) ; 129,7-129,6-129,4-128,3 (-C o, m et p benzoyles) ; 90,9 (C-1) ; 75,6 (-C( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>) ; 71,05-69,1-68,2-67,5 (C-2, C-3, C-4 et C-5) ; 63,7 (C-6) ; 28,3 (-C-( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>).

b) Préparation du 2,-3,-6-tri-O-benzoyl-4-O-trifluoro-méthanesulfonyl- $\alpha$ -D-galactopyranoside de tert-butyle 6c



Au dérivé 6b obtenu en a) (188 mg - 0,34 mmol), en solution dans de la pyridine

anhydre (3,8 ml), est ajouté, sous agitation, sous argon et à  $-10^{\circ}\text{C}$ , de l'anhydre trifluorométhane sulfonique (141  $\mu\text{l}$  - 0,84 mmol - 2,45 équivalents), goutte à goutte en 5 minutes. Après avoir agité sous argon, 60 minutes à  $0^{\circ}\text{C}$  et 45 minutes à température ambiante, le mélange réactionnel est hydrolysé par addition d'un mélange eau-glace (12 ml). La phase aqueuse est extraite avec du dichlorométhane (5 x 10 ml). La phase organique est ensuite reprise pour être séchée et évaporée sous pression réduite pour donner le composé 6c brut.

La purification du brut ainsi obtenu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec l'acétate d'éthyle/hexane (20/80) comme éluant, donne le composé 6c pur (143 mg - 61 %).

$F = 109-111^{\circ}\text{C}$

$[\alpha]_D^{24} = +102,6^{\circ} (c=1; \text{CH}_2\text{Cl}_2)$

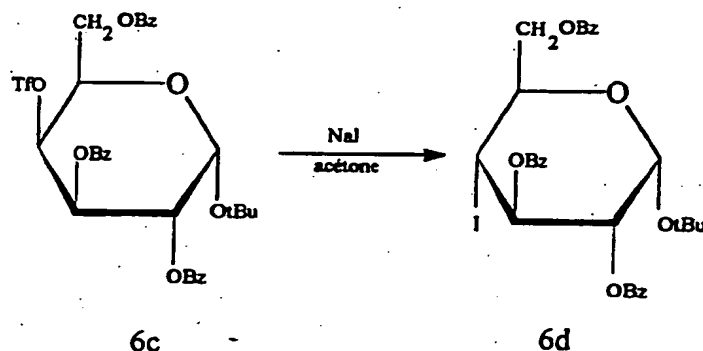
RMN  $^1\text{H}$ , 200MHz, ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) : 8,25-7,95 (m, 6H, H o benzoyles) ; 7,1-6,75 (m, 9H, H m, p, benzoyles) ; 6,2 (dd, 1H,  $J_{3,4} = 2.9$ ,  $J_{3,2} = 10.8$ , H-3) ; 5,8 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 3.7$ ,  $J_{2,3} = 10.8$ , H-2) ; 5,6 (d, 1H,  $J = 3.7$ , H-1) ; 5,5 (d, 1H,  $J = 2.7$ , H-4) ; 4,7 (dd, partie A d'un ABM..., 1H,  $J = 11.03$ , H-6) ; 4,4 (m, 1H, H-5) ; 4,2 (dd, partie B d'un ABM..., 1H,  $J = 11.05$ , H-6') ; 0,9 (s, 9H, C-( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$ , 50MHz, ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) : 165,8 (-CO) ; 133,7-133,4-133,3 (-C ipso benzoyles) ; 130,4-130,0-129,9-129-128,7 (-Co, m et p benzoyles) ; 91,3 (C-1) ; 84,3 (C-( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>) ; 76,3-69,2-68,0-66,2 (C-2, C-3, C-4, et C-5) ; 62,6 (C-6) ; 28,2 (C-( $\text{CH}_3$ )<sub>3</sub>).

RMN  $^{19}\text{F}$ , 188MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : - 74,8 (-OSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>).



c) Préparation du 4-désoxy-4-iodo-2,-3,-6-tri-O-benzoyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside de tert-butyle 6d



Au dérivé 6c (62,5 mg - 0,092 mmol), est additionné de l'iodure de sodium (16,6 mg - 0,11 mmol - 1,2 équivalent) en solution dans de l'acétone (8ml). Après 16 heures d'agitation à 50°C, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner 6d brut. Le résidu est ensuite purifié sur colonne chromatographique sur gel de silice avec le dichlorométhane comme éluant et donne 6d pur (53 mg - 88 %).

$F = 114-115^{\circ}\text{C}$

$[\alpha]_D^{22} = +93,2^{\circ} (c = 0,5; \text{CH}_2\text{Cl}_2)$

RMN  $^1\text{H}$ , 300MHz, ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) : 8,25-8,1 (M, 6H, H o benzoyles) ; 7,2-6,85 (M, 9H, H m et p benzoyles) ; 6,5 (t apparent, 1H, H,  $J = 10.5$ , H-3) ; 5,6 (d, 1H,  $J = 3.4$ , H-1) ; 5,2 (dd, 1H,  $J_{2,1} = 3.5$ ,  $J_{2,3} = 9.8$ , H-2) ; 4,9 (m, 1H, H-6) ; 4,7 (M, 2H, H-5 et H-6') ; 4,05 (t apparent, 1H,  $J = 10.9$ , H-4) ; 0,95 (s, 9H, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$ , 75 MHz, ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ) : 165,9-165,4 (-CO) ; 133,3-133,1-133 (-C ipso benzoyles) ; 130,6-130-129,8-128,6 (-C O, m et p benzoyles) ; 91,2 (C-1) ; 76,1 (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ; 73,6-73,4-70,9 (C-2, C-3 et C-5) ; 66,1 (C-6) ; 28,2 (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) ; 25,5 (C-4).

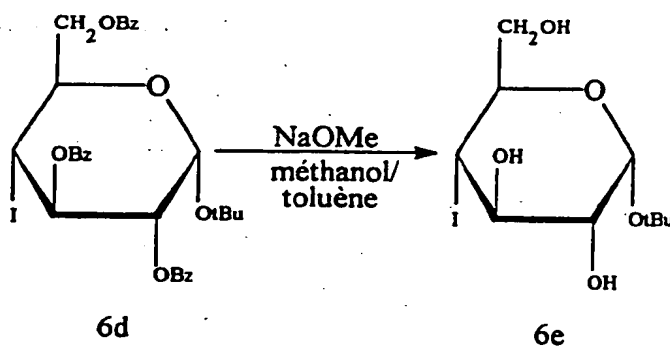
SM (D/IC ; NH<sub>3</sub>-isobutane) : 676 (M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup> 658 (M)<sup>+</sup>; 585 (M-OtBu)<sup>+</sup> ; 463 (585-HOCOC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sup>+</sup> ; 341 (463-HOCOC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sup>+</sup> ; 336 (463-I)<sup>+</sup> ; 187 (314-I)<sup>+</sup> ; 122 (HOCOC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sup>+</sup> ; 105 (122-OH)<sup>+</sup> (100).

5 Analyse élémentaire :

Calculée C (56,54) ; H (4,75) ; I (19,27) ; O (19,44)

Obtenue C (56,56) ; H (4,56) ; I (19,41) ; O (19,18)

10 d) Préparation du 4-désoxy-4-iodo- $\alpha$ -D-glucopyranoside de tert-butyle 6e



15 Au composé 6d (15 mg - 0,023 mmol) en solution dans du toluène (250 $\mu$ l) et du méthanol (250 $\mu$ l) anhydres, est ajouté sous argon, sous agitation et à température ambiante, une solution fraîchement préparée de méthylate de sodium dans du méthanol anhydre (1M-  
 20 5 $\mu$ l). Après trois jours d'agitation sous argon et à l'abri de la lumière, le mélange réactionnel est neutralisé au moyen d'une résine cationique (Amberlite IR (+)120). Le mélange est ensuite filtré et dilué dans de l'eau (4ml). L'extraction de la phase aqueuse avec  
 25 du toluène (3 x 4 ml), donne, après évaporation de la phase aqueuse 6e brut. La purification sur plaque chromatographique sur gel de silice avec l'éthanol/dichlorométhane (10/90) comme éluant donne 6e pur (3,2 mg - 40 %).

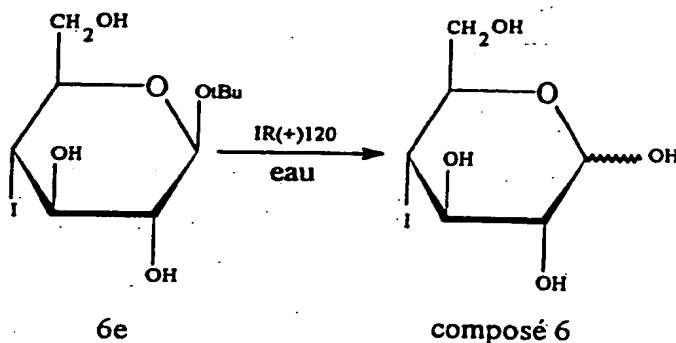
$[\alpha]_D^{25} = +41,3^\circ (c=0,3; \text{MeOH})$

RMN  $^1\text{H}$ , 300 MHz, ( $\text{D}_2\text{O}$ ) : 5,35 (d, 1H,  $J = 3,8$ , H-1) ; 4,4-4,3 (M, 1H, H-5) ; 4,1-3,8 (M, 4H, H-3, H-4, H-6 et H-6') ; 3,6 (dd, 1H,  $J_{1,2} = 3,8$ ,  $J_{2,3} = 9,3$ , H-2) ; 1,4 (s, 9H,  $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

RMN  $^{13}\text{C}$ , 75MHz, ( $\text{D}_2\text{O}$ ) : 92,7 (C-1) ; 74,0-72,2-72,0 (C-2, C-3 et C-5) ; 62,9 (C-6) ; 31,4 (C-4) ; 27,5 ( $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

SM (D/IC ;  $\text{NH}_3$ -isobutane) : 364  
 10  $(\text{M}+\text{NH}_4)^+ (100)$  ; 347,  $(\text{MH})^+$  ; 346  $(\text{M})^+$  ; 329  $(\text{M}-\text{OH})^+$  ;  
 290  $(\text{MH} \rightarrow \text{tBu})^+$  ; 273  $(364 - \text{OtBu})^+$  ; 255  $(273 - \text{H}_2\text{O})^+$  ; 236  
 $(364 - \text{HI})^+$  ; 145  $(273 - \text{HI})^+$  ; 127 (I ou  $255 - \text{HI}$  ou  $145 - \text{H}_2\text{O})^+$ .

#### e) Préparation du composé 6



Au dérivé 6e (7 mg - 0,02 mmol), en solution dans de l'eau distillée (2ml), est ajouté de l'Amberlite IR(+)/120 (36 mg-8 équivalents). Après une nuit d'agitation à reflux, le mélange réactionnel est refroidi. Il est ensuite filtré ; après lavage abondant de la résine à l'eau, le filtrat est évaporé à sec, sous pression réduite, sans chauffer, pour donner le composé 6 pur (4,6mg - 78 %), sous forme incolore.

25  $[\alpha]_D^{23} = -3^\circ$  (après 10 minutes) et  $-11,6^\circ$  (après 70 minutes) ( $c=0,3$ . MeOH)

RMN  $^1\text{H}$ , 500MHz, ( $\text{D}_2\text{O}$ ) : attributions effectuées à l'aide de TOCSY 1D, GHMOC.

1) Anomère  $\alpha$  : 5,28 (d, 1H,  $J = 3.68$ , H-1) ; 4,24-4,20 (M, 1H, H-5) ; 4,00-3,98 (m, 2H, H-6 et H-6') ; 3,94-3,92 (m, 1H, H-3) ; 3,88-3,85 (M, 1H, H-4) ; 3,53 (dd, 1H,  $J_{1,2} = 3.68$  et  $J_{2,3} = 9.2$ , H-2).

5 2) Anomère  $\beta$  : 4,67 (d, 1H,  $J = 7.95$ , H-1) ; 4,11-4,08 (m, 1H, H-6) ; 3,96-3,93 (m, 1H, H-6') ; 3,90-3,85 (M, 2H, H-4 et H-5) ; 3,74 (dd, 1H,  $J = 9.14$  et  $J = 10.34$ , H-3) ; 3,23 (t apparent, 1H,  $J = 8.0$  et  $J = 9.1$ , H-2).  
RMN  $^{13}\text{C}$ , 125MHz, ( $\text{D}_2\text{O}$ ) :

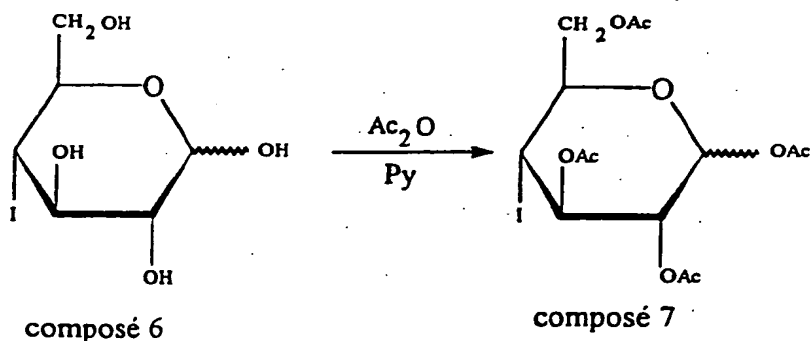
10 1) Anomère  $\alpha$  : 92,2 (C-1) ; 73,71 (C-3) ; 72,70 (C-5) ; 72,1 (C-2).

2) Anomère  $\beta$  : 95,9 (C-1) ; 77,2 (C-3) ; 76,8 (C-5) ; 75,15 (C-2).

15 Les carbones C-4 et C-6, correspondant respectivement aux déplacements 30,3-30,9 (C-4) et 63,1-63,05 (C-6), n'ont pas été attribués pour chaque anomère.

SM (D/IC ;  $\text{NH}_3$ -isobutane) : 308 ( $\text{M}+\text{NH}_4$ )<sup>+</sup> ; 290 ( $\text{M}$ )<sup>+</sup>; 273 ( $\text{M}-\text{OH}$ )<sup>+</sup>, 272 ( $\text{M}-\text{H}_2\text{O}$ )<sup>+</sup> ; 254 ( $272-\text{H}_2\text{O}$ )<sup>+</sup> ; 163 ( $290-\text{I}$ )<sup>+</sup> ; 145 ( $163-\text{H}_2\text{O}$ )<sup>+</sup> ; 127 ( $\text{I}$  ou  $254-\text{I}$ )<sup>+</sup> ; 109 ( $127-\text{H}_2\text{O}$ )<sup>+</sup>.

Exemple 7 : Préparation du 4-désoxy-4-iodo-1,-2,-3,-6-tétra-O-acétyl  $\alpha$  et  $\beta$  -D-glucopyranosides (composé 7)



25 Au composé 6 (2,3 mg - 7,9  $\mu\text{mol}$ ), en solution dans de la pyridine anhydre (200 $\mu\text{l}$ ), on ajoute successivement sous argon, sous agitation et à  $-20^\circ\text{C}$ ,

de l'anhydride acétique (16µl-0,17mmol-21 équivalents). Après un jour d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est hydrolysé (0,5 ml d'eau). On extrait alors la phase aqueuse au dichlorométhane (4fois 1ml), on rassemble les phases organiques pour les laver à l'eau puis les sécher. Après évaporation sous pression réduite, le composé 7 est obtenu. Il est alors purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec le méthanol/dichlorométhane (2/98) comme éluant pour donner le composé 7 pur (3 mg-82%), sous forme incolore.

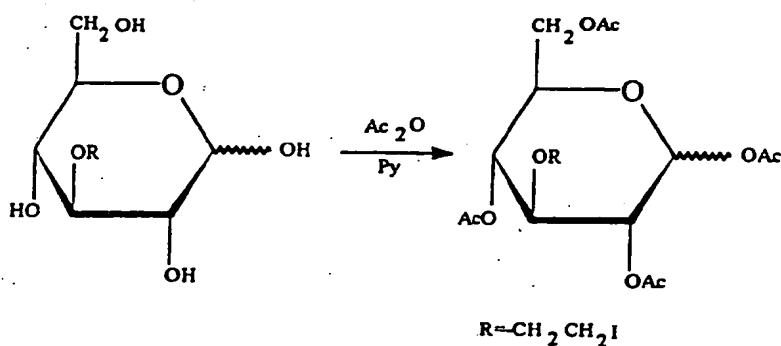
RMN  $^1\text{H}$ , 300MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) :

1) Anomère  $\alpha$ : 6,35 (d, 1H,  $J = 3.4$ , H-1) ; 5,35-5,3 (m, 1H, H-3) ; 5,0-4,95 (m, 1H, H-2) ; 4,6-4,4 (M, 2H, H-6 et H-6') ; 4,1-3,95 (M, 1H, H-4).

2) Anomère  $\beta$ : 5,7 (d, 1H,  $J = 8.6$ , H-1) ; 5,6-5,5 (t apparent, 1H,  $J = 10.4$ , H-3) ; 5,0-4,95 (m, 1H, H-2) ; 4,6-4,4 (M, 2H, H-6 et H-6') ; 4,1-3,95 (M, 1H, H-4).

Les deux hydrogènes H-5 (4,3-4,2 (M) et 4,1-3,95 (M) ainsi que les singulets à 2,17-2,14-2,08-1,99-1,98 ( $\text{COCH}_3$ ), n'ont pas été attribués pour chaque anomère.

Exemple 8 : Préparation du 3-O-(2'-iodoéthyl) 1,2,4,6-tétra-O-acétyl- $\alpha$  et  $\beta$ -D-glucopyranoside (composé 8)



composé 5

composé 8

Au composé 5 (63 mg-0,19 mmol), en solution dans du dichlorométhane anhydre (6 ml) et de la pyridine (1 ml), on ajoute successivement sous argon, sous agitation et à 0°C, un cristal de 4-diméthylaminopyridine et de l'anhydride acétique (250 µl)-2,15 mmol) au goutte à goutte. Après trois jours d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est hydrolysé avec de l'eau (2 ml). On extrait alors la phase aqueuse au dichlorométhane (3x2 ml), on rassemble les phases organiques pour les laver à l'eau puis les sécher. Après évaporation sous pression réduite, les deux anomères bruts du composé 8 sont obtenus. Ils sont alors purifiés au moyen d'une chromatographie sur colonne de gel de silice avec le méthanol/dichlorométhane (1/99) comme éluant pour donner les composés 8 purs (70 mg, 74 %).

RMN<sup>1</sup>H, 300MHz, (CDCl<sub>3</sub>): attribution effectuées à l'aide de TOCSY 2D-COSYDQF2D-COSY <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C

20 1) Anomère β : 5,5 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=8, H-1) ; 5,1-5,0 (m, 2H, H-4 et H-2) ; 4,2-4,0 (m, 2H, H-6 et H-6') ; 3,9-3,75 (m, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I) ; 3,75-3,65 (m, 1H, H-5) ; 3,6 (t, 1H, J<sub>2,3</sub>=J<sub>3,4</sub>=10, H-3) ; 3,2 (quadruplet apparent, 2H, J=7,3-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I).

25 2) Anomère α : 6,2 (d, J<sub>1,2</sub>=4, H-1) ; 5,1-5,0 (m, 1H, H-4) ; 5,0-4,9 (m, 1H, H-2) ; 4,2-4,0 (m, 2H, H-6 et H-6') ; 4,0-3,9 (m, 4H, H-5, H-3 et -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I) ; 3,2 (quadruplet apparent, J=7,3, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I).

30 Les 8 singulets (COCH<sub>3</sub>) à 2,11-2,07-2,06-2,05 (2 pics) -2,03-2,025 et 2,02 n'ont pas été attribués spécifiquement pour chaque anomère.

RMN<sup>13</sup>C, 75MHz, (CDCl<sub>3</sub>) :

1) Anomère β : 91,8 (C-1) ; 80,25 (C-3) ; 72,8 (C-5) ; 71,1 (C-2) ; 61,55 (C-6).

2) Anomère  $\alpha$  : 89,2 (C-1); 77,1 (C-3) ;  
71,1 (C-2) ; 70,05 (C-5); 61,55 (C6).

Les résonances suivantes n'ont pas été  
attribuées spécifiquement pour chaque anomère :  
5 170,6-169,4-169,1-168,9-168,6 (CO), 73,0 et  
72,3 (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I), 68,7 et 68,6 (C-4),  
20,9-20,7-20,6 (-COCH<sub>3</sub>), 2,3 et 2,05 (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I).

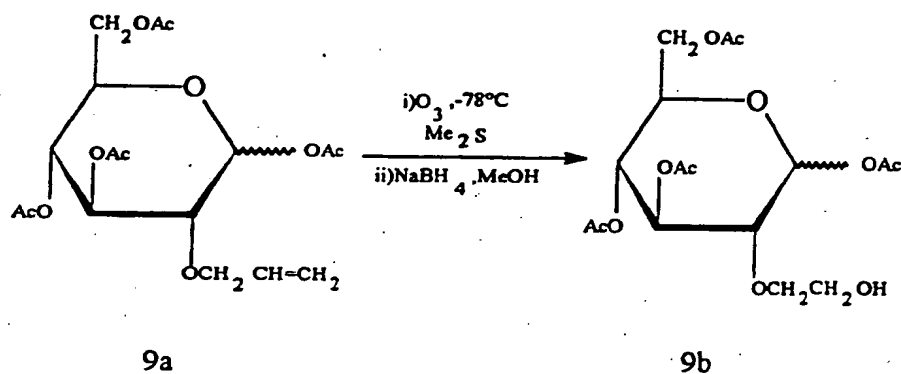
Analyse élémentaire :

Calculée C (38,26), H (4,62)

10 Obtenue C (38,49), H (4,91)

Exemple 9 : Préparation du 2-O-  
(2'-iodoéthyl)-1,-3,-4,-6-tétra-O-acétyl- $\alpha$  et  $\beta$   
-D-glucopyranoside (composé 9)

a) préparation du  
15 2-O-(2'-hydroxyéthyl)-1,-3,-4,-6-tétra-O-acétyl- $\alpha$  et  $\beta$   
-D-glucopyranoside (composé 9b)



20 Le mélange de  
2-O-allyl,-1,-3,-4,-6-tétra-O-acétyl- $\alpha$  et  $\beta$   
-D-glucopyranose (25 mg-0,064 mmol) en solution dans du  
dichlorométhane anhydre (7 ml) et du méthanol anhydre  
(2 ml), est placé sous argon, sous agitation et à  
25 -78°C ; puis, on fait passer un courant d'ozone, "bulle  
à bulle", sous agitation à -78°C pendant 30 minutes.

Après persistance d'une coloration bleue  
durant vingt minutes, l'excès d'ozone est éliminé par

un courant d'oxygène. Puis, on fait passer un courant d'argon. Du sulfure de diméthyle (600µl-8,18 mmol) est additionné à -90°C goutte à goutte. On enlève le bain réfrigérant. Lorsque le mélange est revenu à  
5 température ambiante, le solvant est évaporé sous pression réduite, pour donner l'aldéhyde intermédiaire, sous forme d'huile incolore.

RMN<sup>1</sup>H, 300MHz, (CDCl<sub>3</sub>) : 9,6(m, 1H, -CHO); 6,4 (d, 1H, J=3,4, H-1 α) ; 5,6 (d, 1H, J=8,3, H-1β) ;  
10 5,4-4,95 (M, 4H) ; 4,6-4,4 (M, 1H) ; 4,3-3,2 (M, 11H) ; 2,14 ; 1,98 (s, -COCH<sub>3</sub>).

Le brut obtenu est alors rapidement mis en solution dans du méthanol (4 ml) à 0°C et l'on ajoute du tétraborohydrure de sodium (18 mg-0,48 mmol) en deux  
15 portions. Après 30 min d'agitation à 0°C, l'excès d'hydrure est éliminé par addition d'acétone (1 ml). Le mélange réactionnel est ensuite neutralisé avec une solution d'acide chlorhydrique 0,5N et concentré sous pression réduite.

20 La phase aqueuse est alors extraite avec du dichlorométhane (4x5 ml), puis les phases organiques sont séchées sur sulfate de sodium anhydre. Après évaporation sous pression réduite du dichlorométhane, le mélange brut est purifié par chromatographie sur  
25 colonne de gel de silice avec le mélange éluant méthanol/dichlorométhane (2/98) pour donner 9b pur (20 mg-80 %), sous forme de résidu incolore.

IR : 3500 cm<sup>-1</sup> (OH), 1750 cm<sup>-1</sup> (CO)

RMN<sup>1</sup>H, 500MHz, (CDCl<sub>3</sub>) : attributions  
30 effectuées par TOCSY 1D

1) Anomère α : 6,30 (d, 1H, J=3.7, H-1) ; 5,28 (t, 1H, J=9.7, H-3) ; 5,01 (t, 1H, J=9.8, H-4) ; 4,25-4,0 (M, 3H, H-5, H-6 et H-6') ; 3,8-3,5 (M, 5H, H-2, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH).



2) Anomère  $\beta$  : 5,55 (d, 1H,  $J=8.2$ , H-1) ;  
 5,13 (t, 1H,  $J=9.4$ , H-3) ; 4,98 (t, 1H,  $J=9.8$ , H-4) ;  
 4,25-4,00 (M, 2H, H-6 et H-6') ; 3,80-3,70 (M, 1H, H-5) ;  
 3,8-3,5 (M, 4H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ) ; 3,44 (t, 1H,  $J=8.2$ , H-2) .

Les 8 singulets (3H chacun) à 2,118 ; 2,100 ; 2,018 ; 2,013 ; 2,008 ; 2,003 ; 1,972 et 1,963 ( $-\text{COCH}_3$ ) n'ont pas été attribués pour chaque anomère.

RMN $^{13}\text{C}$ , 50MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) :  
 170,5-170,3-170,2-169,5-169,3-168,8 ( $\text{CO}$ ) ; 93,3 (C-1 anomère  $\beta$ ) ; 89,6 (C-1 anomère  $\alpha$ ) ;  
 78,9-77,4-74,0-72,4-71,7-69,7-67,7 (C-2, C-3, C-4, C-5 des anomères  $\alpha$  et  $\beta$ ) ; 74,4 et 73,6 (C'-1 et C'-2 des anomères  $\alpha$  et  $\beta$ ) ; 61,6-61,4 (C-6 de  $\alpha$  et  $\beta$ ) ; 20,9-20,8-20,6-20,5 ( $-\text{COCH}_3$ ) .

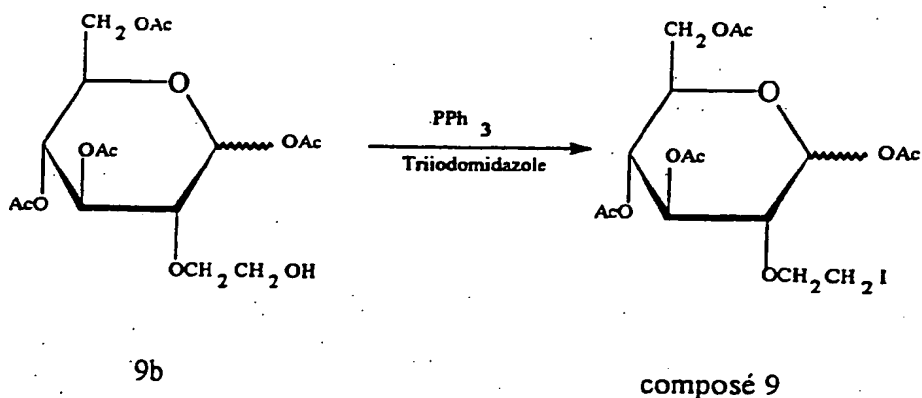
SM(D/IC ;  $\text{NH}_3$ -isobutane) : 410 ( $\text{M}+\text{NH}_4$ )<sup>+</sup> (100) ; 350 ( $\text{M}-\text{AcOH}$ )<sup>+</sup> ; 333 ( $392-\text{OAc}$ )<sup>+</sup> ; 273 ( $333-\text{AcOH}$ )<sup>+</sup> ; 255 ( $273-\text{H}_2\text{O}$ )<sup>+</sup> ; 213 ( $273-\text{AcOH}$ )<sup>+</sup> ; 153 ( $213-\text{C}_2\text{O}_2\text{H}_4$ )<sup>+</sup> .

SMHR :

Calculée :  $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{11}+\text{Na}$ :415,1216

Obtenue :  $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{11}+\text{Na}$ :415,1219

b) préparation du composé 9



Au composé 9b (18 mg-0,46 mmol) en solution dans du toluène (3 ml), l'on ajoute sous agitation, de la triphénylphosphine (18 mg-0,069 mmol) et du triiodoimidazole (101) (16 mg-0,036 mmol). Après 3

heures d'agitation à 120°C, on rajoute de la triphénylphosphine (12 mg-0,046 mmol) et du triiodoimidazole (12 mg-0,027 mmol). Après 14 heures d'agitation à 120°C, le mélange réactionnel est refroidi et hydrolysé avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénosulfate de sodium (3 ml) ; après 5 minutes d'agitation, de l'iode est ajouté jusqu'à obtention d'une coloration brune de la phase organique. On agite alors 10 minutes et l'excès d'iode est éliminé par addition d'une solution aqueuse saturée de thiosulfate de sodium. La phase organique est diluée dans un mélange toluène/acétone. La phase organique est ensuite lavée à l'eau (3x4 ml), puis séchée sur sulfate de sodium anhydre.

Après évaporation de la phase organique sous pression réduite, le composé 9 brut est obtenu. Il est alors purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice avec le mélange méthanol/dichlorométhane (0,5/99,5) comme éluant pour donner 9 pur (20 mg-86 %), sous forme d'huile.

IR : 1750  $\text{cm}^{-1}$  (CO)

RMN<sup>1</sup>H, 500MHz, ( $\text{CDCl}_3$ ) : attributions effectuées à l'aide de TOCSY 1D, COSY DQF

1) Anomère  $\alpha$  : 6,38 (d, 1H,  $J=3,6$ , H-1) ; 5,38 (t, 1H,  $J=9,7$ , H-3) ; 5,04 (t, 1H,  $J=9,8$ , H-4) ; 4,32-4,27 (m, 1H, H-6 ou H-6') ; 4,1-4,05 (M, 2H, H-5 et H-6 ou H-6') ; 3,94-3,60 (M, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ) ; 3,65 (dd, 1H,  $J=9,9$ , H-2) ; 3,18-3,14 (M, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ) ; 2,19-2,10-2,08 et 2,04 (s, 12H,  $-\text{COC}-\text{H}_3$ ).

2) Anomère  $\beta$  : 5,61 (d, 1H,  $J=8,1$ , H-1) ; 5,2 (t, 1H,  $J=9,4$ , H-3) ; 5,02 (t, 1H,  $J=9,7$ , H-4) ; 4,32-4,27 (m, 1H, H-6 ou H-6') ; 4,1-4,05 (m, 1H, H-6 ou H-6') ; 3,9-3,67 (M, 3H, H-5 et  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ) ; 3,51 (dd, 1H,  $J=8,5$ , H-2) ; 3,18-3,14 (M, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{I}$ ) ; 2,18-2,09-2,07-2,03 (s, 12H,  $-\text{COCH}_3$ ).

RMN<sup>13</sup>C, 50MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 170,5--  
 170,1-169,6-169,0-168,6(CO) ; 93,9 (C-1β) ; 89,2 (C-1 α)  
 ) ; 78,5-76,9-73,8-72,4-71,2-69,7-68,0-67,9 (C-2, C-3,  
 C-4 et C-5 des anomères α et β) ; 73,2 et 71,9  
 5 (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I de α et β) ; 61,52(C-6 de α et β) ;  
 21,1-21,0-20,7-20,6(-COCH<sub>3</sub> des anomères α et β) ;  
 2,1(-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I de α et β).

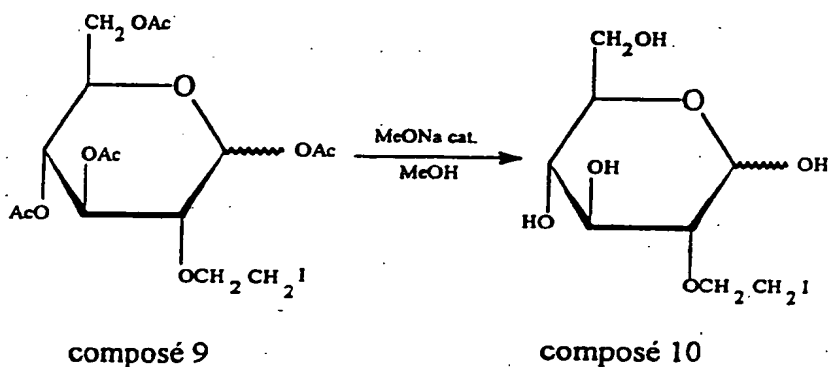
SM(DCI): 520 (M + NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup> , 443 (502-OCOCH<sub>3</sub>)<sup>+</sup> ;  
 442 (502-AcOH)<sup>+</sup> ; 383 (443-AcOH)<sup>+</sup> ; 323 (383-AcOH)<sup>+</sup> ; 197  
 10 (383-C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sup>+</sup> ; 186 (383-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>IO)<sup>+</sup> ; 168 (323-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I)<sup>+</sup> ;  
 155(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I)<sup>+</sup> (100) ; 127 (155-CH<sub>2</sub>=CH<sub>2</sub>ou I)<sup>+</sup> ;  
 108 (168-AcOH)<sup>+</sup>.

SMHR :

Calculée: C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>IO<sub>10</sub>+Na: 525,0233

Obtenue: C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>IO<sub>10</sub>+Na: 525,0247

15 Exemple 10 : Préparation du 2-O-(2'-iodoéthyl)-α et β  
-D-glucopyranose (composé 10)



20

Au composé 9 (44 mg-0,088 mmol, mis en  
 solution dans du méthanol anhydre (2,3 ml), est ajouté,  
 sous agitation et à -30°C, une quantité catalytique de  
 méthylate de sodium en solution 1M dans du méthanol  
 25 anhydre (10,8 µl). Après agitation pendant 14 jours à  
 -30°C, le mélange réactionnel est dilué dans de l'eau  
 (10 ml) et concentré sous pression réduite. La phase  
 aqueuse est ensuite neutralisée au moyen d'acide

sulfurique 0,012M. Après extraction de la phase aqueuse au dichlorométhane (3x10 ml), la phase aqueuse est évaporée à sec pour donner 10 brut. Le résidu ainsi obtenu est purifié au moyen d'une chromatographie sur gel de silice avec l'acétate d'éthyle/isopropanol (90/10) comme éluant pour conduire au composé 10 pur (23,4 mg-80 %) cristallisé.

$$F = 139-143^{\circ}\text{C}$$

$$[\alpha]_D^{25} = + 27,6^{\circ} (60 \text{ minutes}) (c = 0,25; \text{H}_2\text{O})$$

10 RMN-1H, 500MHz, (D<sub>2</sub>O) : attributions effectuées à l'aide de TOCSY 1D, GHMQC

1) Anomère  $\beta$  : 4,7 (d, 1H, J=7.9, H-1); 3,87 (partie A d'un ABM..., 1H, J<sub>AB</sub>=12.3, H-6 ou H-6'); 3,69 (partie B d'un ABM..., 1H, J<sub>AB</sub>=12.3, H-6 ou H-6'); 15 3,53 (t apparent, 1H, J=9.0, H-3); 3,45-3,37 (M, 2H, H-5 et H-4); 3,34 (M, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I). 3,12 (dd, 1H, J=9.3 et J=7.9, H-2).

2) Anomère  $\alpha$  : 5,4 (d, 1H, J=3.6, H-1); 3,82-3,60 (M, 4H, H-3, H-5, H-6 et H-6'); 3,4-3,37 (M, 20 2H, H-2 et H-4); 3,34 (M, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I).

Les deux massifs, respectivement, de 4,12-4,0 (M) et de 3,94-3,92 (t), correspondant à -OCHCH<sub>2</sub>I, n'ont pas été attribués pour chaque anomère.

RMN<sup>13</sup>C, 125MHz, (D<sub>2</sub>O) :

25 1) Anomère  $\beta$  : 95,7 (C-1); 82,6 (C-2); 75,8 (C-5); 75,2 (C-3) ; 73,1 ou 71,4 (C'-1); 69,6 ou 69,5 (C-4); 60,7 (C-6); 3,3 (C'-2).

2) Anomère  $\alpha$  : 90,2 (C-1); 79,55 (C-2); 73,1 ou 71,4 (C'-1); 72-71,2 (C-3 et C-5); 69,6 ou 69,5 (C-4); 30 60,5 (C-6); 3,3 (C'-2).

Les deux carbones, de chaque anomère, portant l'iode (C'-2) sont confondus ; par conséquent, ils ont le même déplacement chimique.

SM(D/IC ; NH<sub>3</sub>-isobutane) : 352 (M + NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup> ; 35 334 (M)<sup>+</sup>; 317 (334-OH)<sup>+</sup>; 299 (334-2H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup> ; 281

(334-3H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 239(299-HOCH<sub>2</sub>-CHO)<sup>+</sup>; 171(O=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I)<sup>+</sup>155  
 (+CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I)+(100) ; 154(281-I)<sup>+</sup>; 146 (317-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I)<sup>+</sup>;  
 144(299-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I)<sup>+</sup>; 127(I)<sup>+</sup>; 126(144-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>.

**Exemple 11 : Préparation du composé 1 marqué par <sup>123</sup>I**

- 5 Ce marquage est réalisé en portant 1 ml  
 d'une solution d'iodure de sodium radioactif Na<sup>123</sup>I  
 dans l'acétone, qui contient 5 mg de composé 1, à une  
 température de 105°C pendant 30 minutes. Après  
 élimination des espèces iodées chargées négativement  
 10 par passage sur une résine anionique, on évapore sous  
 vide l'acétone sans chauffer, on reprend le dérivé iodé  
 radioactif pur du glucose dans du sérum physiologique.  
 Le rendement de marquage R est calculé comme suit :

15

$$R(\%) = \frac{RA_{glc\ iodé}}{RA_{total}} \times 100$$

avec RA glc iodé étant la radioactivité de l'éluat  
 contenant le dérivé de glucose iodé pur et RA totale  
 étant la radioactivité totale utilisée.

- 20 L'activité spécifique AS est donnée par la formule :

$$AS = \frac{RA_{glc\ iodé}}{\text{masse de dérivé de glucose iodé}}$$

Les résultats obtenus sont les suivants :

R > 90 %

AS = 0,8 mCi/mg (~ 0,4 Ci/mmol)

- 25 **Exemple 12 :**

Dans cet exemple, on teste les propriétés  
 biologiques du composé 1 marqué par <sup>123</sup>I obtenu dans  
 l'exemple 11 pour vérifier s'il convient pour  
 l'appréciation de la captation cellulaire du glucose.

30

Dans ce but, le dérivé marqué à l'iode doit  
 traverser la membrane cellulaire grâce au même  
 transporteur que le glucose. Par ailleurs, comme le  
 nombre de transporteurs membranaires du glucose est  
 augmenté sous l'influence de l'insuline et comme ces

transporteurs sont inhibés par la phlorétine ou la cytochalasine B, le dérivé iodé doit avoir une captation cellulaire augmentée par l'insuline et diminuée par la phlorétine ou la cytochalasine B.  
5 Enfin, dans le cytoplasme, le dérivé iodé doit s'accumuler sans subir ni dégradation ni rétrodiffusion pour que l'étude en SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) soit possible.

10 Son comportement biologique doit donc être très voisin de celui du 2-désoxy-D-glucose.

Pour tester ces propriétés on effectue les expériences suivantes.

A) Etude in vivo : bio-distribution chez la souris.

15 Pour cette expérience, on utilise des souris femelles de souche SWISS d'un poids moyen de 20 g nourries avec un régime standard (type AO4-UAR). On injecte dans l'une des veines latérales de la queue des souris 100 µl de solutions du composé 1 marqué à l'iode  
20 <sup>123</sup> (148 kBq/mL de solution isotonique de D-glucose à 5 %). Après 2 min, 5 min, 10 min ou 15 min, on sacrifie les souris par dislocation cervicale, on prélève leurs organes, on les rince et on les sèche. On pèse ensuite ces organes et on mesure la radioactivité captée par  
25 chacun d'eux. On exprime les résultats de la bio-distribution en % de la dose injectée par gramme d'organe, qui est définie de la façon suivante :

$$\% \text{ dose injectée} = \frac{\text{DPS par g de tissu}}{\text{DPS injectée}} \times 100$$

avec DPS = désintégrations par seconde

30

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 1 qui suit.

B) Etude ex vivo : coeur isolé et perfusé de rat.

La méthode consiste à prélever le coeur d'un rat vivant et à le placer en perfusion. Après  
5 injection du dérivé iodé, on mesure l'évolution temporelle de la radioactivité cardiaque pendant 30 min, au moyen d'un détecteur externe de radioactivité placé en face du coeur.

Ce modèle offre l'avantage de permettre des  
10 variations des milieux de perfusion et d'apprécier notamment l'influence de l'insuline qui augmente le transport du glucose par augmentation du nombre de transporteurs, et de la phlorétine qui diminue sa captation en se fixant sur ces mêmes transporteurs.

15 Aussi, si la captation du dérivé iodé est augmentée par l'insuline ou diminuée par la phlorétine, celui-ci répond aux critères fixés, à savoir qu'il entre dans la cellule grâce aux transporteurs du glucose.

20 Pour cette étude, on utilise des rats mâles de souche WISTAR de 250 à 280 g nourris avec un régime standard (type AO4/UAR). On anesthésie les rats par injection péritonéale de Pentobarbital monosodique à 6 % (2 ml par kg de poids corporel). Après une injection  
25 d'héparine (1000 UI/kg), le coeur est rapidement prélevé et perfusé par voie aortique, à un débit constant de 10,5 ml/min.

Le milieu de perfusion est dérivé de celui décrit par Krebs Henseleit : NaCl (118 mM), KCl (5,6  
30 mM), CaCl<sub>2</sub> (1,5 mM), NaHCO<sub>3</sub> (10 mM), MgCl<sub>2</sub> (1,2 mM) et KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1,2 mM). Le milieu perfusé à 37°C est saturé par un mélange gazeux (95 % O<sub>2</sub> - 5 % CO<sub>2</sub>). Selon les protocoles expérimentaux, le milieu de perfusion est supplémenté en insuline (10 UI/l) ou en phlorétine (4 x  
35 10<sup>-5</sup> M). Après 20 minutes de préperfusion, le composé 1

radioactif iodé est injecté à l'entrée du réseau coronaire sous forme d'un embol de 0,1 ml (4  $\mu$ mole/ml du milieu de perfusion). La radioactivité myocardique est mesurée par détection externe en continu grâce à une sonde (NaI) couplée à un analyseur multicanaux fonctionnant en multiéchelle (TRACOR NORTHERN TN7200). Lors de l'étude de l'effet de la phlorétine, la perfusion de l'inhibiteur commence après les 20 minutes de préperfusion, et 5 minutes avant l'injection du composé iodé radioactif.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 2 qui suit.

Les résultats de ce tableau sont exprimés en % de la dose injectée par gramme de coeur. Ce tableau montre que l'insuline augmente la fixation du composé 1 iodé alors que la phlorétine la diminue.

### C) Etude in vitro

#### a) érythrocytes en suspension.

On prépare une suspension d'érythrocytes humains à partir de sang frais selon la méthode décrite par Levine et al dans Biochim. Biophys. Acta Sci 225 : pages 291-300. Les érythrocytes sont mis en suspension dans un tampon isotonique (NaCl (1 %), phosphate de sodium (25 mM, pH 7,4) à un hématocrite de 10 % environ.

A 2,5 ml de suspension cellulaire, on ajoute 1,5 ml de tampon phosphate et les globules rouges sont incubés à 25°C ou 4°C selon le protocole choisi. Un millilitre de composé 1 d'analogue iodé (42 nmol/ml de tampon phosphate) est ajouté à cette suspension. La captation est arrêtée à des temps variables par addition de 30 ml de solution de stoppage à 4°C (2mM HgCl<sub>2</sub>, 1,25 mM KI dans du NaCl à 1 %). La suspension est centrifugée et le culot est lavé une seconde fois avec 10 ml de solution de stoppage. Le



culot est repris avec 4 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % P/V et, après centrifugation, 1 ml de surnageant est prélevé et compté. Un standard (témoin temps 0) est effectué par addition de la solution de stoppage avant le composé 1 iodé radioactif.

Lors de l'étude de l'effet de la concentration en D-glucose sur la captation des analogues iodés du glucose, les érythrocytes sont préincubés 15 minutes à 4°C avec du D-glucose à différentes concentrations (1-20 mM) et la captation est mesurée au bout d'une minute. Pour toutes les études en présence de cytochalasine B ( $5 \times 10^{-5}$  M), la suspension cellulaire est préincubée pendant 20 minutes avec l'inhibiteur à 4°C.

Les résultats obtenus sont donnés dans les tableaux 3 et 4 et ils sont exprimés en  $\mu$ moles de composé capté par  $\ell$  de cellules. Le tableau 3 illustre la cinétique de fixation du composé 1 à 25°C, à 4°C et à 4°C en présence de 50  $\mu$ mol/l de cytochalasine B. Les résultats de ce tableau montrent que la fixation du composé 1 iodé n'est pas modifiée par une diminution de température de 25°C à 4°C : ce résultat est en faveur d'une fixation de la molécule sur la face externe de la membrane cellulaire. Par ailleurs, on remarque que la fixation du composé 1 iodé est diminuée de façon significative en présence de cytochalasine B, inhibiteur du transport du glucose.

Le composé 1 iodé présente donc les caractéristiques d'un marqueur des transporteurs du glucose, sur la face externe de la membrane plasmique.

Dans le tableau 4, on a donné les résultats de captation du composé 1 en présence de concentrations de cytochalasine B allant de 0 à 500  $\mu$ mol/l après 20 minutes d'incubation à 4°C.

Les résultats du tableau 4 montrent que la fixation du composé 1 est inhibé de façon significative ( $p < 0,001$ ) pour de faibles doses de cytochalasine B.

5 b) Les cardiomyocytes de rats nouveau-nés en culture.

Les cultures de cardiomyocytes de rats nouveau-nés sont préparées à partir de coeurs de rats de souche WISTAR âgés de 1 à 4 jours selon la technique décrite par Harary et Farley (1963) et modifiée par  
10 Blondel et al. (1971). Les ventricules sont broyés et soumis à des trypsinisations consécutives (Difco Trypsine 1 : 250 - 0,1 %) à 33°C. Les cellules isolées obtenues sont mises en suspension dans du milieu Ham's F10 (TechGen International) supplémenté de 20 % de  
15 sérum de veau foetal (TechGen International) et de 1% de pénicilline-streptomycine (500 x) (Boehringer) et ajusté à 1mM de  $\text{CaCl}_2$ .

Cette suspension cellulaire est soumise à 2 préensemencements de 30 et 90 minutes à 37°C, afin  
20 d'éliminer les cellules non musculaires. La suspension enrichie en cardiomyocytes est ensemencée à une densité de  $10^6$  cellules/ml dans des boîtes de Pétri d'un diamètre de 35 mm et incubée à 37°C dans une atmosphère contenant 95 % air - 5 %  $\text{CO}_2$ .

25 Les cardiomyocytes sont utilisés après 4 jours de mise en culture et incubés 2 heures auparavant dans du milieu Ham's F10 dépourvu de glucose et de sérum de veau foetal. Cinquante microlitres de composé 1 iodé (840 nmoles/ml de milieu Ham's F10) sont ajoutés  
30 à chaque boîte. Après des temps variables, la captation est arrêtée en rinçant 3 fois les boîtes avec un tampon phosphate [ $\text{NaCl}$  (136,5 mM),  $\text{KCl}$  (0,054 mM),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1,1 mM) et  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  (1,8 mM); pH 7,4] à 4°C. Les cellules sont décollées avec une solution de sodium  
35 dodécyl sulfate à 1 % dans du borate de sodium à 10 mM.

La suspension est prélevée et comptée. Un standard (témoin temps 0) est effectué en arrêtant la captation immédiatement après l'injection du composé 1 iodé. Pour étudier l'effet de la concentration en D-glucose sur la captation du composé iodé, les cardiomyocytes sont préincubés 30 minutes avec du D-glucose (1-20 mM) et la captation est mesurée au bout d'une minute. Dans toutes les études, les cellules sont préincubées une heure avec de l'insuline (100 UI/l) et 30 minutes avec la cytochalasine B ( $5 \times 10^{-5}$  M).

La teneur en protéines de chaque boîte est mesurée par la méthode de Lowry et al. (1951), après chauffage pendant 15 minutes à 70°C de la solution de sodium dodécyl sulfate contenant les cardiomyocytes. Le comptage de l'émission  $\gamma$  est réalisée dans un compteur  $\gamma$  à scintillation (NOVELEC).

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 5. Les résultats de ce tableau sont exprimés en nmol de composé capté/ml de protéine.

Les résultats de ce tableau montrent que la fixation du composé 1 est augmentée par l'insuline et diminuée par la cytochalasine B.

#### D. Etude scintigraphique chez le chien in vivo

Le composé 1 marqué à l'Iode 123 (3mCi) a été injecté par voie intraveineuse à un chien soumis à une perfusion intraveineuse de glucose-insuline-potassium. L'acquisition des images scintigraphiques est réalisée grâce à une gamma caméra standard équipée d'un collimateur à haute résolution, et la spectrométrie est réglée sur 160 ke V avec une fenêtre de 20 %. L'évolution temporelle de la radioactivité est mesurée pendant 60 minutes, à raison d'une image par minute.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 6, et sont exprimés en coups/minute.pixel.mCi injecté.

La figure 1 illustre également les résultats.

Cette figure représente l'évolution de la radioactivité (en coups/min.pixel.mCi) en fonction du temps (en min.). Sur cette figure, la courbe 1 se réfère au coeur, la courbe 2 se réfère au foie, la courbe 3 se réfère au bruit de fond et la courbe 4 se réfère aux poumons.

Les résultats du tableau 6 montrent que l'activité cardiaque est importante.

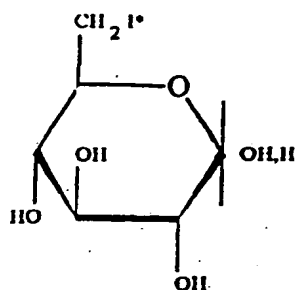
Les résultats biologiques des tableaux 1 à 6 concernant le composé 1 marqué à l'iode 123 montrent que ce composé a une fixation cellulaire stimulée par l'insuline et inhibée par la phlorétine et la cytochalasine B.

Sur érythrocytes humains en suspension, sa fixation n'est pas affectée par des variations de température, ce qui indique que la molécule ne traverse pas la double couche lipidique.

Injecté au chien, son activité myocardique est très élevée et demeure stable pendant un temps suffisant pour que des scintigraphies d'excellente qualité soient effectuées. Ce composé 1 est donc un marqueur des transporteurs du glucose.

Exemple 13 :

Dans cet exemple, on effectue les mêmes études biologiques sur le composé iodé, 6-désoxy-6-iodo-D-glucose de formule :



composé 11

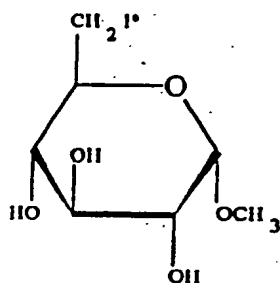
après l'avoir marqué par de l'iode 123 en utilisant la même technique que dans l'exemple 11.

5 Les résultats obtenus avec ce composé sont donnés dans les tableaux 7 à 11.

Ce composé iodé a aussi une captation cellulaire stimulée par l'insuline et inhibée par la phlorétine et la cytochalasine B; il est en compétition avec le glucose pour son entrée cellulaire. Ce composé entre dans la cellule par le même transporteur que le glucose, et peut donc servir de marqueur de la captation cellulaire du glucose.

Exemple 14 :

15 On suit le même mode opératoire que dans l'exemple 12, pour tester les propriétés biologiques du 6-désoxy-6-iodo-α-D-glucopyranoside de méthyle de formule :



composé 12

20

qui a été marquée à l'iode 123 comme le composé 1 dans l'exemple 11.

Les résultats de ces études biologiques sont donnés dans les tableaux 12 à 17 et sur la figure 3.

La figure 2 illustre les résultats de l'étude in vivo chez le chien. Sur cette figure, la courbe 1 se réfère au coeur, la courbe 2 se réfère au foie, la courbe 3 se réfère au bruit de fond et la courbe 4 se réfère aux poumons.

Le composé 12 iodé se comporte de la même façon que les composés 1 et 11 décrits dans les exemples 12 et 13.

En effet, sa captation est augmentée par l'insuline et diminuée par la phlorétine et la cytochalasine B. Il entre en compétition avec le glucose pour l'entrée cellulaire et son activité cardiaque est importante.

Les dérivés iodés de l'invention présentent donc un intérêt dans le diagnostic de toutes les pathologies liées à des perturbations du métabolisme glucidique, ces pathologies étant caractérisées par une variation du nombre de transporteurs du glucose, et/ou une variation de la captation du glucose. Le champ d'application de ces dérivés est extrêmement vaste puisqu'il concerne la cancérologie, les maladies dégénératives cérébrales, l'épilepsie, le diabète, l'ischémie myocardique, les cardiomyopathies non ischémiques et enfin les myopathies.

TABLEAU 1 :  
Biodistribution chez la souris (% de la dose injectée  
par g d'organe)

Temps	Coeur	Foie	Poumons	Reins	Cerveau	Sang
2 min	5,48±0,55	8,47±1,51	8,21±1,07	19,94±4,00	1,36±0,17	7,27±0,63
5 min	3,40±0,86	5,30±0,10	6,00±0,50	29,90±1,90	1,55±0,05	5,88±0,82
10 min	2,43±0,66	4,37±0,26	5,50±0,36	19,23±2,15	1,8	4,57±0,25
15 min	3,08±0,66	3,47±0,41	4,73±0,53	17,15±0,04	1,7	5,67±1,31

5

TABLEAU 2 :  
Coeur isolé de rat (% de la dose injectée par g de  
coeur)

TEMPS (min)	CONTRÔLES (n=3)	+Insuline (1010μ I/I) (n=3)	+ Phlorétine (40μM) (n=3)
1	1,71±0,42	7,13±1,44**	1,43±0,27
2	0,86±0,23	2,36±0,80*	0,59±0,07
5	0,41±0,10	0,43±0,01	0,26±0,03
10	0,21±0,06	0,28±0,06	0,13±0,03
15	0,16±0,04	0,23±0,002	0,11±0,02
20	0,12±0,04	0,15±0,01	0,09±0,02
25	0,10±0,05	0,13±0,002	0,07±0,02
30	0,09±0,03	0,09±0,003	0,06±0,02

10 Comparaison avec les valeurs contrôles : \*p<0,05,  
\*\*p<0,01

TABLEAU 3 :

Globules rouges ( $\mu\text{mol}$  de composé 1 par litre de cellules)

5

Temps (min)	25°C (n=3)	4°C (n=3)	4°C + cytochalasine B (50 $\mu\text{M}$ ) (n=3)
1	1,25 $\pm$ 0,13	1,10 $\pm$ 0,12	0,19 $\pm$ 0,05***
5	1,45 $\pm$ 0,14	1,56 $\pm$ 0,21	0,59 $\pm$ 0,09***
15	2,18 $\pm$ 0,27	2,30 $\pm$ 0,28	0,86 $\pm$ 0,189***
60	4,88 $\pm$ 0,16	5,82 $\pm$ 0,18**	4,86 $\pm$ 0,17**

\*\*p<0,01    \*\*\*p<0,001    25°Cvs4°C    4°Cvs4°C+cytoB

TABLEAU 4 :

Globules rouges ( $\mu\text{mol}$  de composé 1 par litre de cellules)

10

Concentration en cytochalasine B ( $\mu\text{M}$ )	Captation	p
0	1,417 $\pm$ 0,085	
8	0,218 $\pm$ 0,144	0,001
50	0,132 $\pm$ 0,091	0,001
100	0,741 $\pm$ 0,167	0,01
200	0,766 $\pm$ 0,255	0,05
500	0,693 $\pm$ 0,090	0,001



TABLEAU 5 :  
Cardiomyocytes de rats nouveau-nés (nmol/mg de protéines)

Temps (min)	0mM glucose	+100 UI/l insuline	+50µMcyt.B
1	0,10±0,02	0,13±0,01	0,09±0,03
15	0,23±0,03	0,33±0,04*	0,15±0,01*
60	0,29±0,03	0,42±0,07*	0,24±0,01
120	0,31±0,04	0,36±0,03	0,24±0,01

- 5 Comparaison avec les valeurs en l'absence de glucose.\*p<0,005

TABLEAU 6 :  
Etude chez le chien in vivo (coups/min.pixel.mCi)

Temps	Coeur	Poumons	Foie	Bruit de Fond
5 min	38	24	41	24
10 min	36	23,5	35	24
15 min	36	23	34	24
20 min	35,5	23	32	23
30 min	33	21	32	23
45 min	31	20	28	21

TABLEAU 7 :

Biodistribution chez la souris (% de la dose injectée  
par g d'organe

Temps	Coeur	Foie	Poumons	Reins	Cerveau	Sang
2 min	7,97±0,18	11,1±0,51	7,80±0,49	8,97±0,68	2,70±0,14	11,9±0,10
5 min	7,00±0,77*	9,57±0,50*	8,30±0,57	6,97±0,54*	3,53±0,33*	10,2±0,6
10 min	6,99±0,62*	8,50±0,64*	7,37±0,66	6,90±0,59*	3,97±0,57*	7,53±0,28
15 min	6,25±1,14*	6,60±0,22***	6,40±0,14*	6,27±0,41**	3,80±0,25**	7,48±0,53
60 min	3,78±1,04***	3,67±0,39***	3,90±0,37***	3,77±0,33***	2,40±0,16	4,90±0,60

5

TABLEAU 8 :

Coeur isolé de rat (% de la dose injectée par g de  
coeur)

TEMPS (min)	CONTRÔLES (n=5)	+Insuline (10µl/l) (n=5)	+ Phlorétine (40µM) (n=4)
1	2,67±0,63	2,52±0,78	1,24±0,26**
2	1,08±0,15	0,57±0,18**	0,72±0,2*
3	0,60±0,06	0,25±0,07**	0,49±0,11
4	0,39±0,06	0,16±0,06**	0,43±0,09
5	0,26±0,06	0,10±0,02**	0,34±0,05

10 Comparaison avec les valeurs contrôles : \*p<0,05;  
\*\*p<0,01

TABLEAU 9 :

Globules rouges ( $\mu\text{mol}$  de composé 11 par litre de cellules)

Temps (min)	25°C (n=3)	4°C (n=3)	4°C + cytochalasine B (50 $\mu\text{M}$ ) (n=3)
1	3,253 $\pm$ 0,20	0,444 $\pm$ 0,107***	0,006 $\pm$ 0,003**
5	3,055 $\pm$ 0,17	2,628 $\pm$ 0,045*	0,039 $\pm$ 0,004***
15	3,089 $\pm$ 0,163	3,183 $\pm$ 0,034	0,033 $\pm$ 0,009***
60	3,769 $\pm$ 0,307	3,459 $\pm$ 0,039	0,115 $\pm$ 0,020***

\*\*p&lt;0,05

\*\*p&lt;0,01\*\*\*p&lt;0,01

25°Cvs4°C ;

4°Cvs4°C+cytoB

10

TABLEAU 10 :

Globules rouges ( $\mu\text{mol}$  de composé 11 capté par litre de cellules)

Concentration en glucose (mM)	Captation ( $\mu\text{mol}$ par litre) (n=6)
0	0,547 $\pm$ 0,054
1	0,426 $\pm$ 0,050*
2,5	0,357 $\pm$ 0,011**
5	0,277 $\pm$ 0,015**
10	0,214 $\pm$ 0,008***
20	0,100 $\pm$ 0,013***
40	0,038 $\pm$ 0,002***

\*p&lt;0,05

\*\*p&lt;0,01

\*\*\*p&lt;0,001

**TABLEAU 11 :**  
**Cardiomyocytes de rats nouveau-nés (nmol/mg de protéines)**

5

Temps (min)	0mM glucose	+100 UI/l insuline	+50µMcyt.B
1	0,046±0,006	0,068±0,004***	0,035±0,008*
15	0,126±0,010	0,137±0,007*	0,070±0,014***
60	0,151±0,019	0,161±0,025*	0,103±0,005***
120	0,169±0,020	0,162±0,003**	0,128±0,011**

Comparaison avec les valeurs en l'absence de glucose.\*p<0,05 \*\*p<0,01 \*\*\*p<0,001

**TABLEAU 12:**  
 10 Biodistribution chez la souris (% de la dose injectée par g d'organe)

Temps	Coeur	Foie	Poumons	Reins	Cerveau	Sang
2 min	7,58±1,15	7,06±1,02	6,84±0,94	9,58±0,69	0,72±0,08	7,30±0,095
5 min	6,38±0,83	6,49±1,44	5,68±0,95	9,20±0,63	0,94	7,39±1,26
10 min	5,92±0,34	6,52±0,91	5,65±0,52	8,58±1,21	1,03±0,09	5,75±0,075
15 min	4,95±0,57	6,34±0,32	5,27±0,46	8,76±0,23	1,73±0,055	5,47±0,225
60 min	2,55±0,48	3,58±0,56	3,13±0,56	6,24±0,63	1,99±0,53	4,86±0,31

TABLEAU 13 :

Coeur isolé de rat (% de la dose injectée par g de coeur)

5

TEMPS (min)	CONTROLES (n=5)	+Insuline (10 $\mu$ l/l) (n=5)	+ Phlorétine (40 $\mu$ M) (n=4)
1	3,12 $\pm$ 0,84	6,95 $\pm$ 1,47***	1,37 $\pm$ 0,41**
2	0,97 $\pm$ 0,19	1,94 $\pm$ 0,56**	0,59 $\pm$ 0,19*
5	0,21 $\pm$ 0,04	0,30 $\pm$ 0,12	0,17 $\pm$ 0,03
10	0,10 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,06	0,08 $\pm$ 0,01
15	0,07 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,004
20	0,07 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,03	0,04 $\pm$ 0,004
25	0,05 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01
30	0,06 $\pm$ 0,005	0,04 $\pm$ 0,005	0,04 $\pm$ 0,01

TABLEAU 14 :

Globules rouges ( $\mu$ mol de composé 12 par litre de cellules)

10

Temps (min)	25°C (n=3)	4°C (n=3)	4°C + cytochalasine B (50 $\mu$ M) (n=3)
1	3,42 $\pm$ 0,06	0,38 $\pm$ 0,15***	0,03 $\pm$ 0,09*
5	3,78 $\pm$ 0,25	1,36 $\pm$ 0,19***	1,50 $\pm$ 0,08
15	4,04 $\pm$ 0,09	2,86 $\pm$ 0,05***	1,61 $\pm$ 0,15***
60	3,91 $\pm$ 0,14	3,24 $\pm$ 0,70	3,99 $\pm$ 0,40

La cytochalasine B inhibe la captation.

TABLEAU 15 :  
Globules rouges ( $\mu\text{mol}$  de composé 12 capté par litre de cellules)

Concentration en glucose (mM)	Captation ( $\mu\text{mol}$ par litre) (n=6)
0	$0,74 \pm 0,19$
1	$0,28 \pm 0,15^{***}$
2,5	$0,49 \pm 0,14^*$
5	$0,42 \pm 0,17^*$
10	$0,44 \pm 0,20^*$
20	$0,33 \pm 0,09^{***}$
40	$0,26 \pm 0,07^{***}$

5

TABLEAU 16 :  
Cardiomyocytes de rats nouveau-nés (nmol/mg de protéines)

Temps (min)	0mM glucose	+100 UI/l insuline	+50 $\mu\text{M}$ cyt. B
1	$0,08 \pm 0,025$	$0,09 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,01^{**}$
15	$0,10 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,01^*$
60	$0,10 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,01$
120	$0,11 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,01^{**}$	$0,11 \pm 0,01$

10 Comparaison avec les valeurs en l'absence de glucose.

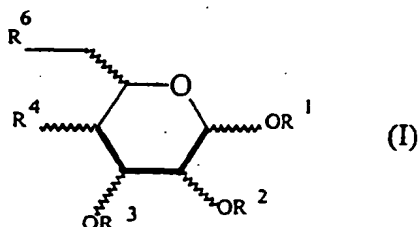
TABLEAU 17 :

Etude chez le chien in vivo (coups/min.pixel.mCi)

Temps	Coeur	Poumons	Foie	Bruit de Fond
5 min	48,0	25,0	54,0	20,8
10 min	37,5	22,0	44,0	25,0
15 min	34,7	23,0	40,0	25,0
20 min	33,3	22,0	39,7	26,4
30 min	31,6	21,5	37,7	27,2
45 min	29,4	20,5	37,7	24,4

## REVENDICATIONS

1. Dérivé iodé de monosaccharide de formule :



dans laquelle

-  $R^1$  représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle, un groupe de formule  $-C(O)R^7$  avec  $R^7$  étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule  $-(CH_2)_2-(OCH_2CH_2)_mI$  avec  $m$  égal à 0 ou à 1 ;

-  $R^2$  et  $R^3$  qui peuvent être identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un groupe de formule  $-C(O)R^7$  ou  $C(O)OR^7$  avec  $R^7$  étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule  $-(CH_2)_2-(OCH_2CH_2)_mI$  avec  $m$  égal à 0 ou à 1 ;

-  $R^4$  et  $R^6$  qui peuvent être identiques ou différents, représentent I, OH, un groupe alkyle, un groupe de formule  $OR^7$ ,  $-OC(O)R^7$ , ou  $-OC(O)OR^7$  avec  $R^7$  étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule  $-(OCH_2CH_2)_nI$  avec  $n$  égal à 1 ou à 2 ;

l'un seulement des  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  et  $R^6$  représentant I ou un groupe comportant I, à condition que :

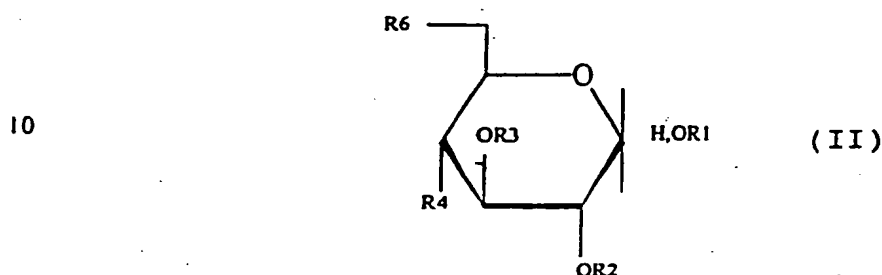
1) dans le cas où  $R^3$  représente  $-CH_2CH_2I$ ,  $R^1$  et  $R^2$  ne représentent pas H ou  $COCH_3$  et  $R^4$  et  $R^6$  ne représentent pas OH ou  $OCOCH_3$ ,

2) dans le cas où  $R^6$  représente I,  $R^1$  ne représente pas H ou  $CH_3$ ,  $R^2$  et  $R^3$  ne représentent pas H et  $R^4$  ne représente pas OH, et



- 3) dans le cas où  $R^4$  représente I,  $R^2$  et  $R^3$  ne représentent pas H,  $R^1$  ne représente pas H ou  $C(CH_3)_3$ , et  $R^6$  ne représente pas OH.

2. Dérivé iodé du glucose selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il répond à la formule :



15 dans laquelle  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  et  $R^6$  ont les mêmes significations données dans la revendication 1,

3. Dérivé iodé selon la revendication 2, caractérisé en ce que  $R^1$  représente  $-CH_2CH_2I$  ou  $-(CH_2)_2OCH_2CH_2I$ ,  $R^2$  et  $R^3$  représentent un atome d'hydrogène, et  $R^4$  et  $R^6$  représentent OH.

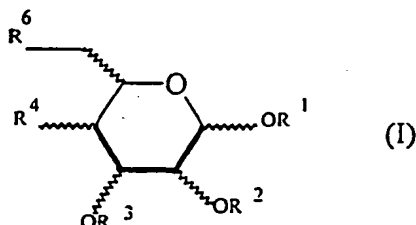
4. Dérivé iodé selon la revendication 2, caractérisé en ce que  $R^1$ ,  $R^2$  et  $R^3$  représentent un atome d'hydrogène ou  $-C(O)CH_3$ ,  $R^4$  représente I et  $R^6$  représente OH ou  $-OC(O)CH_3$ .

25 5. Dérivé iodé selon la revendication 2, caractérisé en ce que  $R^1$  représente  $-CH_2CH_2I$  ou  $-(CH_2)_2OCH_2CH_2I$ ,  $R^2$  et  $R^3$  représentent le groupe  $-C(O)CH_3$ , et  $R^4$  et  $R^6$  représentent le groupe  $-OC(O)CH_3$ .

30 6. Dérivé iodé selon la revendication 2, caractérisé en ce que  $R^1$  représente  $-CH_2CH_2I$ ,  $R^2$  et  $R^3$  représentent le groupe  $-C(O)CH_3$ , et  $R^4$  et  $R^6$  représentent le groupe  $OC(O)CH_3$ .

7. Dérivé iodé du glucose selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce  
35 que I est  $^{123}I$  ou  $^{131}I$ .

8. Produit radiopharmaceutique, caractérisé en ce qu'il comprend un dérivé iodé de monosaccharide de formule :



dans laquelle

-  $R^1$  représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle, un groupe de formule  $-C(O)R^7$  avec  $R^7$  étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule  $-(CH)_2-(OCH_2CH_2)_mI$  avec  $m$  égal à 0 ou à 1 ;

-  $R^2$  et  $R^3$  qui peuvent être identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un groupe de formule  $-C(O)R^7$  ou  $C(O)OR^7$  avec  $R^7$  étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule  $-(CH_2)_2-(OCH_2CH_2)_mI$  avec  $m$  égal à 0 ou à 1 ;

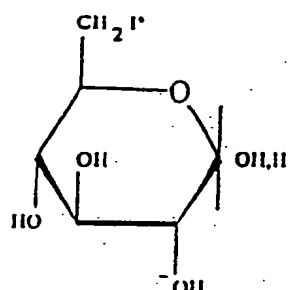
-  $R^4$  et  $R^6$  qui peuvent être identiques ou différents, représentent I, OH, un groupe alkyle, un groupe de formule  $OR^7$ ,  $-OC(O)R^7$ , ou  $-OC(O)OR^7$  avec  $R^7$  étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule  $-(OCH_2CH_2)_nI$  avec  $n$  égal à 1 ou à 2 ;

l'un au moins des  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  et  $R^6$  représentant I ou un groupe comportant I avec I étant  $^{123}I$  ou  $^{131}I$

à condition que dans le cas où  $R^3$  représente  $-CH_2CH_2I$ ,  $R^1$  et  $R^2$  ne représentent pas H ou  $COCH_3$  et  $R^4$  et  $R^6$  ne représentent pas OH ou  $OCOCH_3$ .

9. Produit radiopharmaceutique pour déterminer l'importance du transport membranaire du glucose, caractérisé en ce qu'il comprend un produit radiopharmaceutique selon la revendication 8.

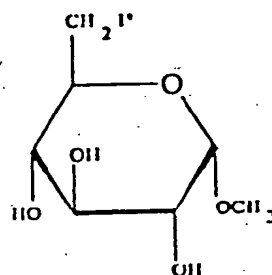
10. Produit radiopharmaceutique pour déterminer l'importance du transport membranaire du glucose, caractérisé en ce qu'il comprend un dérivé iodé du glucose de formule :



composé 11

dans laquelle I est  $^{123}\text{I}$  ou  $^{131}\text{I}$ .

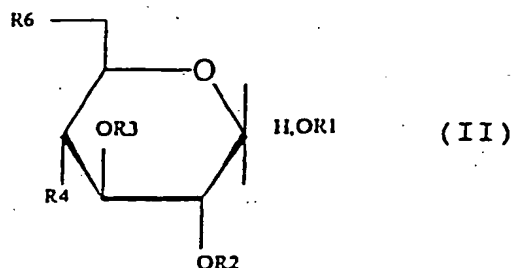
11. Produit radiopharmaceutique pour déterminer l'importance du transport membranaire du glucose, caractérisé en ce qu'il comprend un dérivé iodé du glucose de formule :



composé 12

dans laquelle I est  $^{123}\text{I}$  ou  $^{131}\text{I}$ .

12. Utilisation d'un dérivé iodé du glucose de formule :



(II)

dans laquelle :

- $R^1$  représente un atome d'hydrogène, un groupe alkyle, un groupe de formule  $-C(O)R^7$  avec  $R^7$  étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule  $-(CH)_2-(OCH_2CH_2)_mI$  avec  $m$  égal à 0 ou à 1 ;
- 5        -  $R^2$  et  $R^3$  qui peuvent être identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène, un groupe de formule  $-C(O)R^7$  ou  $C(O)OR^7$  avec  $R^7$  étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule  $-(CH_2)_2-(OCH_2CH_2)_mI$  avec  $m$  égal à 0 ou à 1 ;
- 10        -  $R^4$  et  $R^6$  qui peuvent être identiques ou différents, représentent I, OH, un groupe alkyle, un groupe de formule  $OR^7$ ,  $-OC(O)R^7$ , ou  $-OC(O)OR^7$  avec  $R^7$  étant un groupe alkyle, ou un groupe de formule  $-(OCH_2CH_2)_nI$  avec  $n$  égal à 1 ou à 2 ;
- 15        - l'un au moins des  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  et  $R^6$  représentant I ou un groupe comportant I, pour la préparation d'un produit radiopharmaceutique destiné à la détermination de l'importance du transport membranaire du glucose.

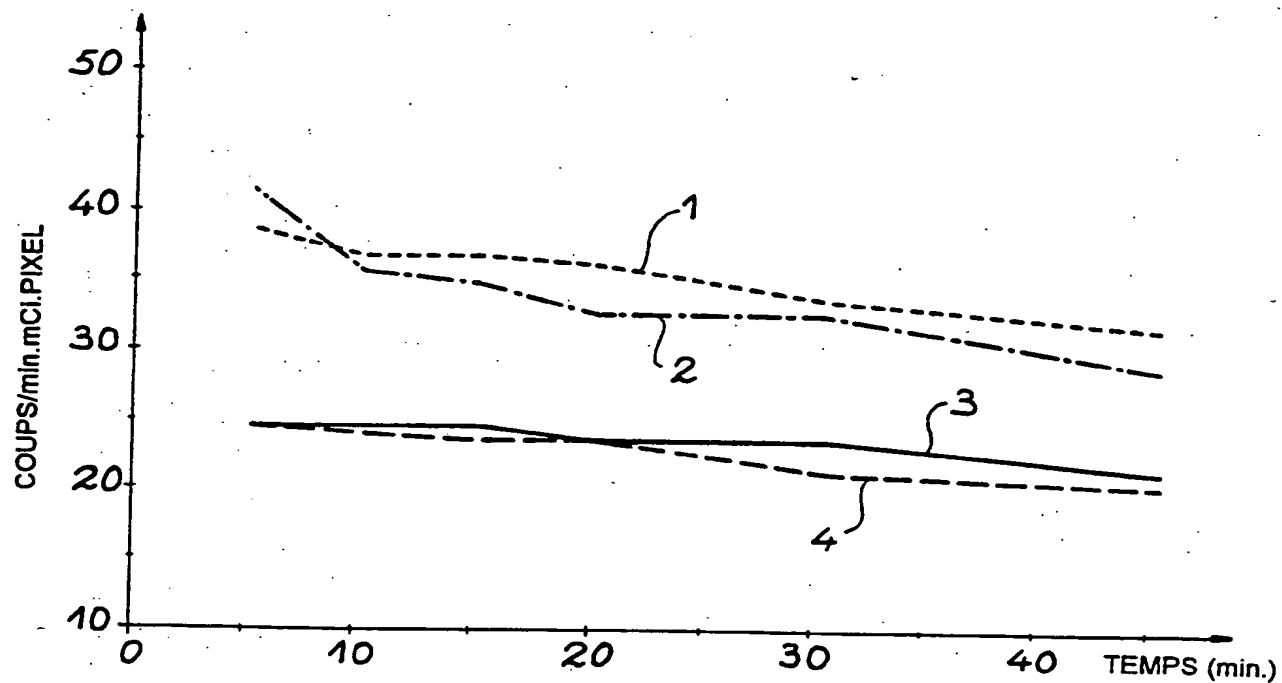


FIG. 1

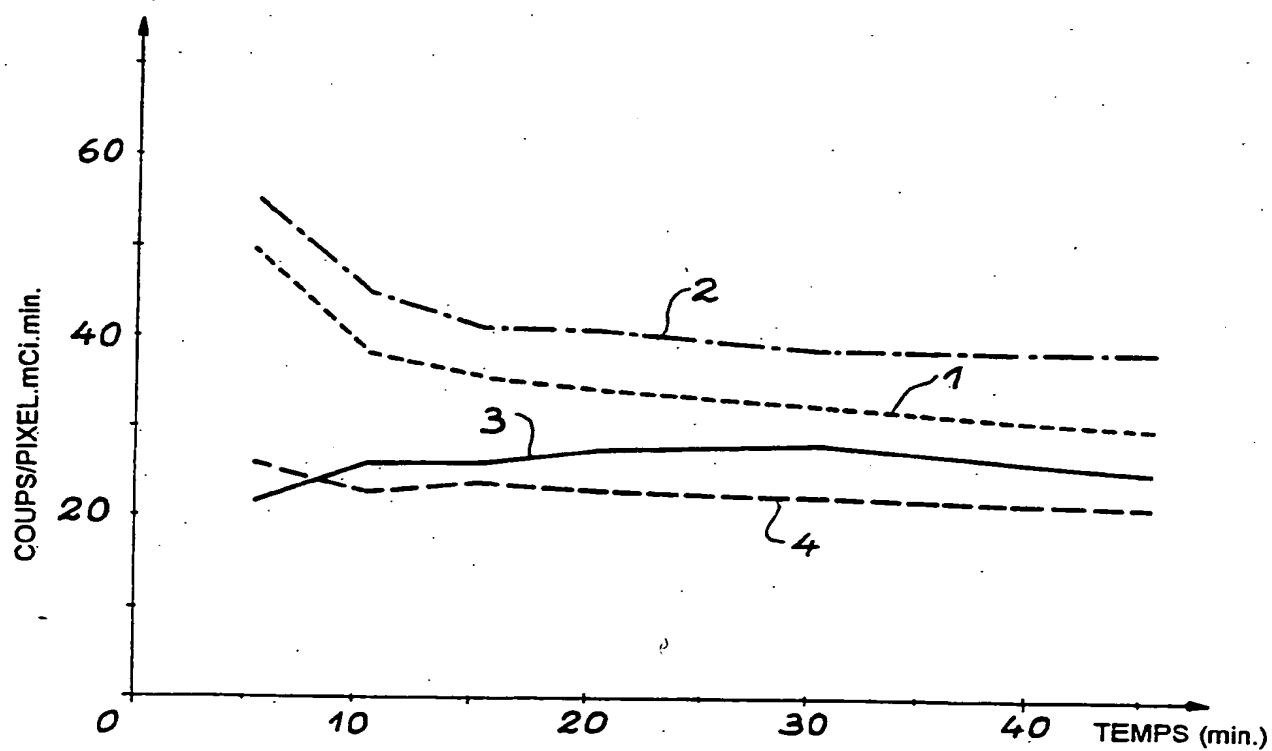


FIG. 2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PL./FR 96/00655

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07H5/02 C07H15/04 G01N33/60 A61K51/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07H G01N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO,A,88 00175 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE) 14 January 1988 see the whole document ---	1-13
X	CARBOHYDRATE RESEARCH, vol. 248, 4 October 1993, AMSTERDAM NL, pages 371-375, XP002009588 G.BIGNAN ET AL.: "Synthesis of 3-O-(2-iodoethyl)-D-glucose, a stable iodo derivative of D-glucose for medical imaging." *Compound 1 and 5, page 372* --- -/--	1,2,6



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 July 1996

Date of mailing of the international search report

30.08.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Scott, J

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PL./FR 96/00655

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CARBOHYDRATE RESEARCH, vol. 245, no. 2, 19 July 1993, AMSTERDAM NL, pages 233-244, XP002009589 H.P.WESSEL ET AL.: "Preparation of 4,6-cyclo-4,6-dideoxy-hexopyranoses by palladium-mediated intramolecular cyclodehalogenation" *Compound 19, page 235* ---	1,2
X	TETRAHEDRON LETTERS, vol. 35, no. 23, 6 June 1994, OXFORD GB, pages 3909-3912, XP002009590 G.BIGNAN ET AL.: "Synthesis of 4-Iodo-4-deoxy-D-Glucose." *Compound 1, page 3911* ---	1,2,4
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 85, no. 7, 16 August 1976 Columbus, Ohio, US; abstract no. 44722w, W.WASSENAAR ET AL.: "Carbohydrates as Potential Diagnostic Tracers for Brain Tumors." page 380; column 1; XP002009591 see abstract & J.NEUROSURG., vol. 44, no. 6, pages 668-676, cited in the application -----	1-14

## International Application No.

**Patent document  
cited in search report**

Publication date

**Patent family member(s)**

Publication date

14-01-88

FR-A-	2601000
EP-A-	0275270

08-01-88  
27-07-88



# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. Internationale No

PC, /FR 96/00655

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 C07H5/02 C07H15/04 G01N33/60 A61K51/04

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C07H G01N A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO,A.88 00175 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE) 14 Janvier 1988 voir le document en entier	1-13
X	CARBOHYDRATE RESEARCH, vol. 248, 4 Octobre 1993, AMSTERDAM NL, pages 371-375, XP002009588 G.BIGNAN ET AL.: "Synthesis of 3-0-(2-iodoethyl)-D-glucose, a stable iodo derivative of D-glucose for medical imaging." * composés 1 et 5, page 372 *	1,2,6

-/--

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

### \* Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*&\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

29 Juillet 1996

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

30.08.96

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+ 31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Scott, J

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No  
PC ,FR 96/00655

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>CARBOHYDRATE RESEARCH, vol. 245, no. 2, 19 Juillet 1993, AMSTERDAM NL, pages 233-244, XP002009589 H.P.WESSEL ET AL.: "Preparation of 4,6-cyclo-4,6-dideoxy-hexopyranoses by palladium-mediated intramolecular cyclodehalogenation" * composé 19, page 235 *</p>	1,2
X	<p>TETRAHEDRON LETTERS, vol. 35, no. 23, 6 Juin 1994, OXFORD GB, pages 3909-3912, XP002009590 G.BIGNAN ET AL.: "Synthesis of 4-Iodo-4-deoxy-D-Glucose." * composé 1, page 3911 *</p>	1,2,4
A	<p>CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 85, no. 7, 16 Août 1976 Columbus, Ohio, US; abstract no. 44722w, W.WASSENAAR ET AL.: "Carbohydrates as Potential Diagnostic Tracers for Brain Tumors." page 380; colonne 1; XP002009591 voir abrégé &amp; J.NEurosurg., vol. 44, no. 6, pages 668-676, cité dans la demande</p>	1-14

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem--te Internationale No  
PC./FR 96/00655

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO-A-8800175	14-01-88	FR-A- 2601000	08-01-88
		EP-A- 0275270	27-07-88
-----			

Formulaire PCT/ISA/210 (annexe familles de brevets) (juillet 1992)